



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus Sabdariffa* L) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID DAN AKTIVITAS KATALASE PADA TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) STRAIN WISTAR HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI ALOXAN

TESIS



**YELTRA ARMI
1021212034**

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
2013**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA ROSELA (*Hibiscus Sabdariffa* L)
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID DAN KATALASE
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) STRAIN WISTAR
HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI ALOXAN**

Oleh :

Yeltra Armi

Pebimbing :

1. DR. Eti Yerizel, MS
2. Prof.DR.dr.Nasrul Zubir,SpPD-KGEH

RINGKASAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikimia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya yang berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau beberapa kegagalan organ tubuh. (Setyohadi *et al*, 2006). Manifestasi klinis DM (hiperglikemi dan ketosis) terjadi jika lebih dari 90% sel-sel beta rusak (Lawrence,1994 : Karam *et al*, 1996). Hiperglikemi merupakan keadaan peningkatan glukosa darah dari pada rentang kadar puasa normal 80 – 90 mg/dl darah, atau rentang non puasa sekitar 140 – 160 mg/ 100 ml darah (Elizaberh J.Corwin, 2001).

Untuk menginduksi hewan percobaan menjadi DM digunakan senyawa aloxan. Aloxan adalah suatu subtract yang secara structural merupakan derivat pirimidin sederhana. Mekanisme kerjanya mengakibatkan kerusakan baik dalam jumlah sel maupun masa sel pancreas sehingga terjadi penurunan pelepasan insulin yang mengakibatkan terjadinya hiperglikemi. Pemberian aloxan merupakan suatu cara yang tepat untuk menghasilkan kondisi diabetik

eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Pada kondisi hiperglikemia ini menyebabkan terjadinya stress oksidatif.

Stres oksidasi (*oxidative stress*) secara terminologi menunjukkan adanya produksi radikal bebas yang berlebihan melebihi kapasitas perlindungan antioksidan. Radikal bebas yang berasal dari oksigen diklasifikasikan sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS). Produksi ROS yang berlebihan atau terjadinya kerusakan perlindungan terhadap ROS menimbulkan stress oksidasi, sehingga mengakibatkan terjadinya beberapa kelainan patologis (Rush *et al.*, 2005).

Hiperglikemia pada DM atau DM yang tidak terkontrol akan meningkatkan produksi radikal bebas yang ditandai oleh peningkatan kadar *thiobarbituric reactive substance* (TBARs) dalam plasma. Hiperglikemia kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemi kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi mikrovaskuler pada penderita DM. Hiperglikemia akan diikuti terjadinya hiperlipidemia yang ditandai terjadinya peroksidasi lipid.

Pada dasarnya oksidasi asam lemak merupakan reaksi rantai peroksidasi lipid, yang dirangsang radikal bebas. Akibat akhir dari rantai ini adalah terputusnya rantai karbon asam lemak yang menghasilkan berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehid seperti Malondialdehid, 9-hidroksi-nonenal serta senyawa hidro karbon seperti etana (C_2H_6) dan pentane (C_5H_{12}) (Arsyat, 2000). MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, dan biasanya digunakan sebagai *biomarker* biologis untuk menilai stress oksidatif (Suryohudoyo, 2000). Pada kondisi

hiperglikemia ditandai dengan peningkatan ROS dalam tubuh, sehingga ROS dapat merusak lipid, protein dan DNA. Kerusakan lipid dapat ditandai dengan peningkatan kadar MDA yang menjadi biomarker dari stress oksidatif. Untuk meredam efek radikal bebas didalam tubuh terdapat enzim antioksidan endogen seperti katalase, SOD dan GSHPX. Pada kondisi hiperglikemia akan menyebabkan ROS meningkat, hal ini akan menyebabkan menurunnya aktivitas katalase.

Aktivitas katalase sebagai antioksidan endogen akan meningkat apabila radikal bebas meningkat dan bila jumlah radikal bebas tidak seimbang dengan kemampuan antioksidan untuk meredamnya aktifitasnya akan berkurang. Enzim katalase di produksi sel untuk mengkatalis H_2O_2 menjadi oksigen dan air, sehingga bersifat nontoksik (bothanKM,2006). Senyawa H_2O_2 dihasilkan oleh aktifitas enzim oksidase, daya rusak H_2O_2 bukan hanya karena senyawa tersebut merupakan oksidan yang kuat tetapi juga karena H_2O_2 dapat menghasilkan radikal hidroksil diantara senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktifitasnya sangat tinggi (Suryohudoyo, 2007). Selain enzim antioksidan endogen, sumber anti oksidan bias kita temukan dari berbagai macam tumbuhan, buah-buahan. Salah satunya sumbernya yaitu dari Rosella.

Rosella yang memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi direkomendasikan sebagai bahan untuk dikonsumsi. Bahan aktif dari kelopak bunga rosella adalah grossypeptin, antosianin, glusidehibiscin dan plavonoit. Menurut DEPKES RI kelopak bunga rosella mengandung vitamin C, vitamin D, vitamin B1, vitamin B2, niacin, riboplavin, betakaroten, zat besi, asam aminol, polisakarida, omega 3, kalsium. Rasa asam dari kelopak bunga rosella

disebabkan kandungan vitamin C, Asam sitrat dan asam glikolik (Mariani dan Kristiana 2008).

Antioksidan adalah molekul yang berkemampuan memperlambat atau pun mencegah oksidasi molekul lain. Kandungan antioksidan yang rendah dalam tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif dan merusak sel-sel tubuh. Oleh karena itu efek pengobatan dengan mengkonsumsi rosella ini terhadap berbagai penyakit sebenarnya merupakan efek dari antioksidannya (Anonim, 2010).

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*, yang menggunakan tikus sebagai hewan percobaan, usia tikus yang digunakan rata-rata 2-3 bulan dengan berat antara 200-300 gram. Penelitian ini dilakukan selama 21 hari di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, Laboratorium Farmakologi Dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

Hasil penelitian diolah dengan menggunakan uji *Analisis Of Varian* (ANOVA) dengan derajat kepercayaan 95%. Jika didapatkan hasil yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test Multiple Comparisons*, jenis *Bonferroni*.

Hasil penelitian ini didapatkan diperoleh rata-rata kadar MDA pada kelompok KN adalah $8,49 \pm 2,38$ nmol/ml, kelompok KP adalah $12,81 \pm 1,57$ nmol/ml, kelompok P1 adalah $10,28 \pm 1,75$ nmol/ml, kelompok P2 adalah $7,75 \pm 1,30$ nmol/ml dan pada kelompok P3 adalah $8,04 \pm 0,49$ nmol/ml. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA antar kelompok ($p <$

0,05). Hasil uji *Post Hoc Test* pada kadar MDA didapatkan kelompok yang berhubungan secara signifikan adalah kadar MDA kelompok P1 dengan kelompok P3 ($p=0,012$). Sedangkan kelompok yang lain tidak memperlihatkan hubungan yang signifikan ($p > 0.05$).

Hasil penelitian pada kadar katalase didapatkan hasil rata-rata kelompok KN adalah $11,4 \pm 1,41$ unit/mg, kelompok KP adalah $9,3 \pm 0,75$ unit/mg, kelompok P1 adalah $9,84 \pm 0,22$ unit/mg, kelompok P2 adalah $10,56 \pm 0,37$ unit/mg dan pada kelompok P3 adalah $9,85 \pm 0,79$ unit/mg. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata aktivitas katalase antar kelompok ($p < 0,05$).

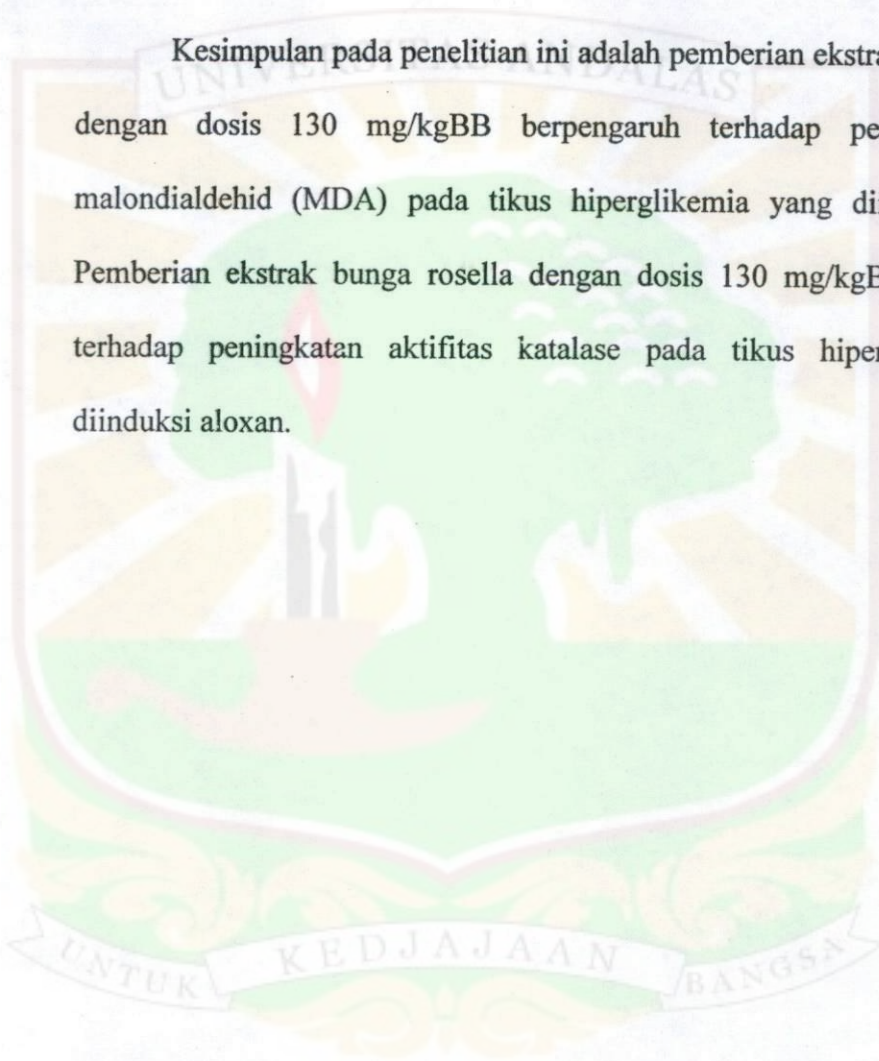
Dilanjutkan dengan hasil uji *Post Hoc Test* ternyata pada kelompok KP dengan kelompok P2 terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,029$ ($p < 0,05$), sedangkan kelompok yang lain tidak memperlihatkan hubungan yang signifikan ($p > 0.05$).

Penurunan sekresi insulin akan menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah sehingga terjadi keadaan hiperglikemia. Pada kondisi hiperglikemia akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif sehingga produksi ROS di dalam tubuh meningkat dan akan menyebabkan terbentuknya peroksida lipid sehingga terjadi peningkatan kadar MDA.

Di dalam tubuh, ROS secara konstan diproduksi dan dieliminasi, selama sel masih memiliki pertahanan endogen melawan zat oksidan tersebut. Diduga bahwa kadar ROS yang rendah berperan dalam fisiologi signaling antara sel secara normal. Sedangkan produksi ROS yang berlebihan atau terjadinya kerusakan perlindungan terhadap ROS menimbulkan stress oksidatif, sehingga mengakibatkan terjadinya beberapa kelainan patologis (Rush et al, 2005)

Pada kondisi hiperglikemia, kadar radikal bebas sebagai oksidan didalam tubuh meningkat, sehingga oksidan yang terbentuk menekan aktifitas enzim anti oksidan endogen yang salah satunya enzim katalase. Pada saat produksi radikal bebas maka aktifitas katalase akan mengalami penurunan karena H_2O_2 akan menjadi $\cdot OH$ (Radikal Hidroksil) yang sangat toksik.

Kesimpulan pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak bunga rosella dengan dosis 130 mg/kgBB berpengaruh terhadap penurunan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan. Pemberian ekstrak bunga rosella dengan dosis 130 mg/kgBB berpengaruh terhadap peningkatan aktifitas katalase pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan.



PROGRAM PASCA SARJANA ILMU BIOMEDIK

Thesis, January 2013

By : YELTRA ARMI

The Effect Of Rosella Petal Flower Exctract Adminitration To Melanodialdehyd Level And Catalase Activity In Hyperglycemic Wistar Rats Induced with Aloxan

ABSTRACK

Metabolism in diabetes melitus patients tend to increase. An uncontrolled DM can be the caused of oxidative stress in the body. This is signed by the increased o fReactive Oxygn Species (ROS) that decreased the oxidant in the body. To anticipate the complication effect of DM because of free radicals, exogen antioxidant is needed which can be found in rosella petal flower. The purpose of this research was to fin out The Effect Of Rosella Petal Flower Exctract Adminitration To Melanodialdehyd Level And Catalase Activity In Hyperglycemic Wistar Rats Induced with Aloxan.

An experimental study using Post test Only Group Design was carried out t hyperglycemic 25 male wistar rats 2-3 months old. The rats were divided into 5 groups, 1 negative control group with standard diets, 1 positive control group induced with aloxan 150 mg/kgBW, 3 treatment groups given three dosages , the first treatment group 65 mg/kg BW, the second treatment group 130 mg/kg BW and the third treatment group 195 mg/kg BW for 21 day. The data were processed by using ANOVA α 5%

The adminitration of three dosages of rosella petal flower extract showed the average MDA level was higher to the negative control group $8,49 \pm 2,38$ nmol/ml, while in the positive control group has higher MDA level than negative control group $12,81 \pm 1,57$ nmol/ml. In the treatment group 1, the MDA level was $10,28 \pm 1,75$ nmol/ml, in the treatment group 2 was $7,75 \pm 1,30$ nmol/ml and in the treatment group 3 was $8,04 \pm 0,49$ nmol/ml. The lowest was in the second group treatment compared to the first and the third treatment group ($p=0,014$). The average catalase activity in positive control group was lower than in the negative control group which was $11,41 \pm 1,41$ unit /mg in negative group and $9,34 \pm 0,75$ unit /mg in positive group. While in the treatment groups were found out the increasing catalase activity in the first teratment group was $9,84 \pm 0,22$ unit/mg, the second treatment group was $10,56 \pm 0,37$ unit/mg and on the third treatment group was $9,85 \pm 0,79$ unit/mg. The highest activity increasment was found out in the second treatment group ($p=0,036$).

The adminitration of Rosella Petal Flower Exctract can reduced the MDA level and increase the catalase activity in hyperglycemic wistar rats induced with Aloxan.

Key words

Hibiscus safaridda L, melanoldahedid , catalase and Hyperglycemic

PROGRAM PASCA SARJANA ILMU BIOMEDIK

Tesis, Januari 2013

OLEH : YELTRA ARMI

Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa L*) Terhadap Aktivitas Malondialdehid Dan Aktivitas Katalase Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Hiperglikemia Yang Diinduksi Aloxan

ABSTRAK

Penderita penyakit metabolik seperti Diabetes Mellitus (DM) cenderung mengalami peningkatan. DM yang tidak terkontrol dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif dalam tubuh. Pada kondisi stress oksidatif ditandai dengan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengakibatkan terjadinya penurunan antioksidan dalam tubuh. Untuk mengantisipasi terjadinya komplikasi pada penyakit DM akibat dari radikal bebas, maka diperlukan antioksidan eksogen, salah satunya antioksidan yang terdapat pada bunga rosella. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap kadar MDA dan aktivitas katalase pada tikus putih strain wistar hiperglikemia yang diinduksi aloxan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *Post Test Only Group Design* pada 25 ekor tikus jantan umur 2-3 bulan. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok kontrol negatif (KN) dengan diet standar, 1 kelompok kontrol positif (KP) yang diinduksi aloxan 150 mg/KgBB, 3 kelompok perlakuan dengan memberikan ekstrak rosella dengan 3 tingkatan dosis yaitu perlakuan 1 dengan dosis 65 mg/kg BB, pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 130 mg/kg BB dan pada kelompok perlakuan 3 dengan dosis 195 mg/kg BB. Perlakuan dilakukan selama 21 hari. Data diolah dengan uji ANOVA dengan α 5%.

Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar MDA pada kelompok kontrol negatif $8,49 \pm 2,38$ nmol/ml, kelompok kontrol positif $12,81 \pm 1,57$ nmol/ml lebih tinggi dari kelompok kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan kadar MDA, P1 $10,28 \pm 1,75$ nmol/ml, P2 $7,75 \pm 1,30$ nmol/ml dan kelompok P3 $8,04 \pm 0,49$ nmol/ml. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA antar kelompok ($p=0,014$). Rerata aktifitas katalase pada kelompok kontrol positif lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif yaitu KN $11,41 \pm 1,41$ unit/mg dan KP $9,34 \pm 0,75$ unit/mg. Pada kelompok perlakuan terjadi peningkatan aktifitas katalase, rerata peningkatannya yaitu pada kelompok P1 adalah $9,84 \pm 0,22$ unit/mg, pada kelompok P2 $10,56 \pm 0,37$ unit/mg dan pada kelompok P3 $9,85 \pm 0,79$ unit/mg. Ternyata peningkatan aktivitas katalase yang paling tinggi yaitu pada kelompok P2 dibanding pada kelompok P1 dan P3. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata aktivitas katalase antar kelompok ($p=0,036$).

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu pemberian ekstrak bunga rosella dapat menurunkan kadar MDA dan peningkatan aktivitas katalase pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan.

Kata kunci : *Hibiscus Sabdariffa L*, Malondialdehid, Katalase, Hiperglikemia

**Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan maka apabila telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanlah hendaknya kamu berharap
(Qs. Alam Nasrah: 7.9)**

Alhamdulillah

Sebuah langkah usai sudah

Satu cita telah ku gapai

Namun

Itu bukan akhir dari perjalanan
Melainkan awal dari satu perjuangan

Ibunda

Do'a mu menjadikan ku bersemangat
Kasih sayang mu yang membuatku menjadi kuat
Hingga aku selalu bersabar
melalui ragam cobaan yang menggejar
Kini cita-cita dan harapan telah ku gapai

Ayahanda

Petuah mu bak pelita, menuntun ku di jalan-Nya
Peluh mu bagai air, menghilangkan haus dahaga
Hingga darah ku tak membeku
Dan raga ku belum berubah kaku

Suamiku...

Motivasi dan semangat dari Mu..

Jadikan kekuatan dan ketegaranku dalam menjalani proses ini...

Sehingga Ku gapai dan Ku tata masa depan dengan Do'a mu

Anakku...

Recreian mu, kebahagiaan dan pengemang hidup ku..

Dengan segenap kasih sayang dan Diiringi Do'a yang tulus ku persembahkan Karya ini kepada Ayahanda dan Ibunda... Suamiku dan anak ku serta Uda dan Uni, tak lupa kepada teman-teman ku seangkatan terutama buat "Nova dan Icom" yang seperjuangan, yang telah membantu dan memberikan semangat hingga terselesaikan tugas ini.

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini peneliti menyatakan bahwa isi tesis yang peneliti tulis dengan judul Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa L*) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Aktivitas Katalase Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Hiperglikemia yang Diinduksi Alofan adalah karya sendiri dan bukan menjiplak dari karya orang lain kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan dan gelar yang peneliti peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Januari 2013

METERAI
TEMPEL
PAJAK HIBANGKUTY BANGSA
TGL. 20

BBEBFABF192366794

ENAM RIBU RUPIAH
6000

DJP

Yeltra Armi

Bp. 1021212034

UNTUK

KEDJAJAAN

BANGSA

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama Lengkap : Yeltra Armi

Tempat/tanggal lahir : Bukittinggi, 15 November 1984

Jenis kelamin : Perempuan

Warga negara : Indonesia

Agama : Islam

Status : Menikah

Pendidikan : 1. SDN 49 Balai Sati Tahun 1991 – 1997
2. SLTP N 4 Balai Sati Tahun 1997 – 2000
3. SLTA N 1 IV Angkat Candung Tahun 2000 – 2003
4. Akbid Prima Nusantara Tahun 2003 – 2006
5. Poltekkes DIV Bidan Pendidik Tahun 2006 – 2007

Pengalaman kerja : Staf pengajar di STIKes Prima Nusantara
Tahun 2007 - sekarang

Alamat : Komplek Primavera No.7 Pulau Anak Air Bukittinggi

Daftar riwayat hidup ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Padang, Januari 2013

Yeltra Armi

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat, karunia, taufik dan hidayah-Nya, sehingga peneliti dapat menyelesaikan Tesis ini dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Dan Aktivitas Katalase Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Hiperglikemia Yang Di Induksi Aloxan”.

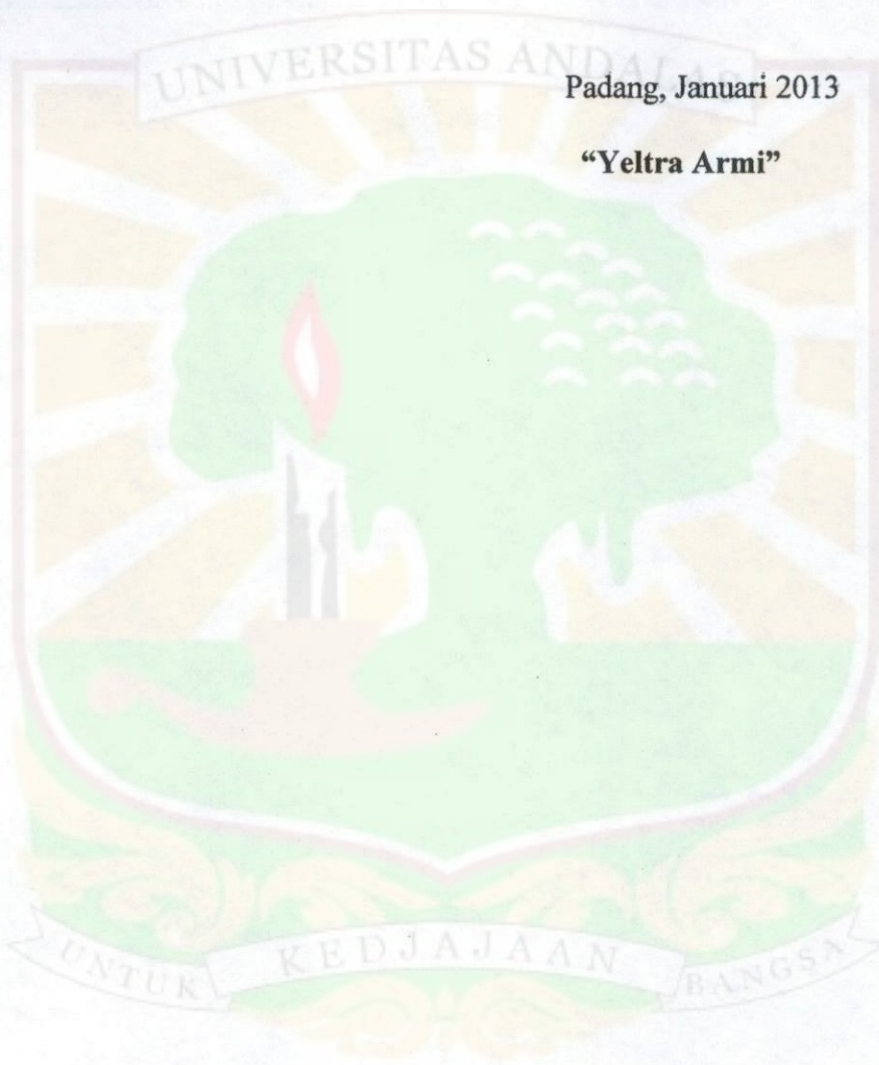
Dalam menyelesaikan Tesis ini, peneliti banyak menemui kesulitan dan hambatan. Namun berkat Rhmat dan Ridho-Nya serta bimbingan, dorongan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya proposal ini dapat diselesaikan. Dengan hati yang tulus dan penuh rasa syukur peneliti sampaikan ucapan terima kasih kepada yang terhormat :

- DR. Eti Yerizel, MS sebagai ketua komite pembimbing serta Bapak Prof.DR.dr. Nasrul Zubir, SpPD-KGEH sebagai anggota komisi pembimbing yang telah ikhlas dan penuh kesabaran membimbing saran dan dukungan moril, sehingga peneliti dapat menyelesaikan tesis ini.
- Rektor Universitas Andalas, Dr. H. Werry Darta Taifur,SE,MA., Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Prof.dr.Fadil Oenzil, PhD, SpGK, Ketua Program Studi Ilmu Biomedik Prof.dr.Fadil Oenzil, PhD, SpGK, yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk mengikuti Pendidikan program Pascasarjana di Universitas Andalas.
- Terima kasih bagi semua dosen Program Studi Ilmu Biomedik yang telah memberikan materi yang telah menambah ilmu pengetahuan serta wawasan peneliti.

Semoga amal baik dari semua pihak, dapat imbalan yang berlipat dari Allah SWT. Akhirnya disadari bahwa Tesis ini butuh kritik serta saran berbagai pihak sehingga bisa menuju kesempurnaan dan penelitian ini nantinya dapat bermanfaat bagi pembaca.

Padang, Januari 2013

“Yeltra Armi”



DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GRAFIK.....	vii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Penelitian	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Militus	8
2.2. Hyperglikemi, Abnormalitas Metabolisme dan Radikal Bebas	12
2.3. Aloksan	13
2.4. Radikal Bebas	14
2.5. Anti Oksidan	23
2.6. Stres Oksidatif	25
2.7. Hubungan Diabetes dengan Radikal Bebas	26
2.8. Efek aloksan terhadap Sel beta Pankreas	32
2.9. Malondialdehid (MDA)	33
2.10. Enzim Katalase	35
2.11. Rosella (Hibiscus Sabdarifal)	36

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka konseptual	43
3.2 Hipotesis	45

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1	Jenis Penelitian	46
4.2	Waktu Dan Tempat Penelitian	46
4.3	Populasi Dan Sampel	46
4.4	Variabel Penelitian Dan Defenisi Operasional	49
4.5	Alat Dan Bahan	52
4.6	Prosedur Kerja	54
4.7	Kerangka Operasional Penelitian	57
4.8	Pemeriksaan Kadar Malondialdehid (MDA) Darah.....	58
4.9	Pemeriksaan Aktivitas Katalase.....	59
4.10	Pengolahan Dan Analisa Data.....	61

BAB V HASIL PENELITIAN

5.1	Kadar MDA.....	62
5.2	Aktifitas Katalase.....	63

BAB VI PEMBAHASAN

6.2	Kadar MDA.....	65
6.3	Aktifitas Katalase.....	68

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

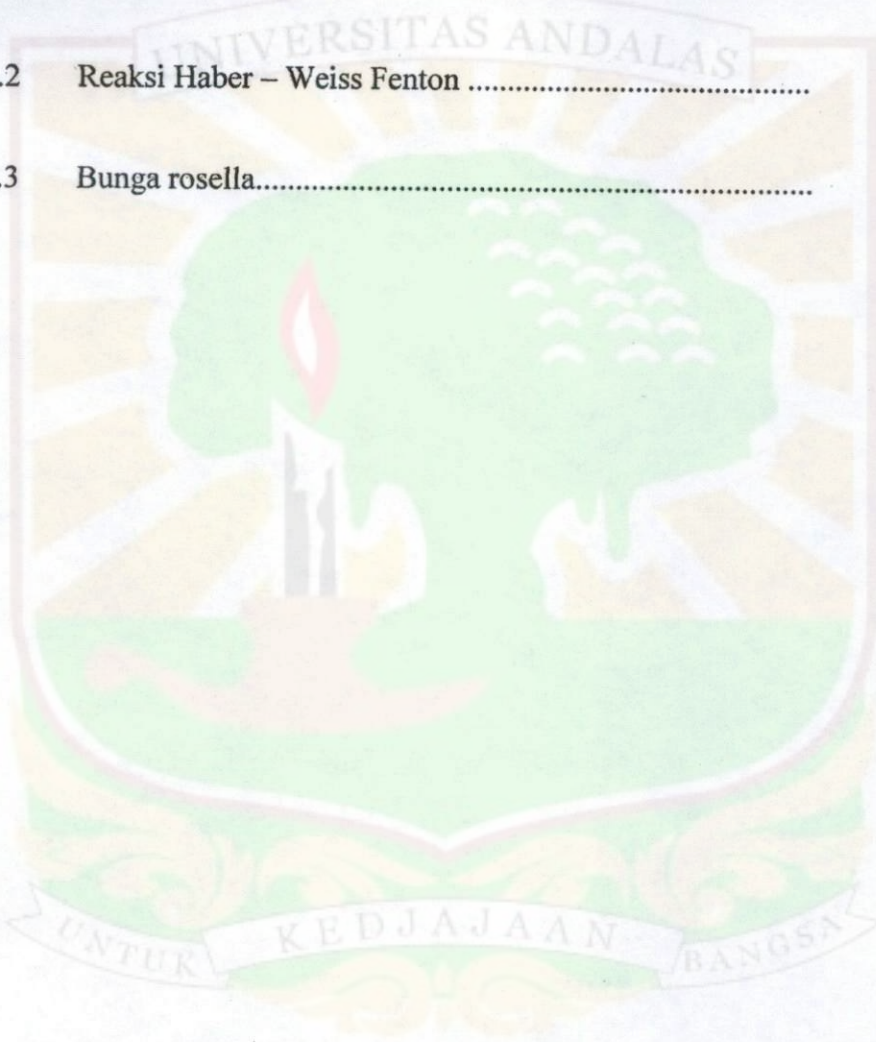
7.1	Kesimpulan.....	71
7.2	Saran.....	71

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Hiperglikemia – Stress Oksidativ – Komplikasi	
vaskuler menahun.....	31
2.2 Reaksi Haber – Weiss Fenton	34
2.3 Bunga rosella.....	35



DAFTAR TABEL

5.1	Perbedaan Rerata Kadar MDA Darah Berdasarkan Kelompok Penelitian	62
5.2	Hasil Uji <i>Post Hoc Test</i> Kadar MDA Antara Kelompok.....	63
5.3	Perbedaan Rerata Katalase Berdasarkan Kelompok Penelitian	63
5.4	Hasil Uji <i>Post Hoc Test</i> Aktivitas Katalase Antara Kelompok.....	64

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dampak positif dari pergeseran pembangunan yang dilaksanakan oleh pemerintah menjadikan perubahan juga terhadap pola penyakit di Indonesia. Diduga erat kaitannya dengan pola hidup dan pola makan, sehingga timbulnya beberapa penyakit degeneratif yang salah satunya adalah Diabetes Melitus (DM) (Suyono, 2006).

Hiperglikemia adalah suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam plasma darah melebihi batas normal. Hiperglikemia kronis dapat menimbulkan kerusakan, gangguan fungsi pada beberapa organ tubuh, khususnya mata, saraf, ginjal dan komplikasi lain akibat gangguan mikro dan makrovaskuler. (Gustaviani R, 2006).

Berdasarkan laporan Menteri Kesehatan pada tahun 2005 bahwa Indonesia adalah Negara urutan ke 4 penderita Diabetes terbesar setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Ini didukung oleh survey yang dilakukan WHO, bahwa Indonesia memiliki prevalensi Diabetes Melitus 8,6 % dari jumlah penduduk. Sebelumnya, diceritakan penderita Diabetes mencapai 4,5 juta jiwa terjadi peningkatan drastis di tahun 2005 yaitu 12,4 juta jiwa penderita dari total populasi penduduk Indonesia. Menurut laporan dari Departemen Kesehatan, jumlah pasien Diabetes Melitus rawat inap maupun rawat jalan di Rumah Sakit menempati urutan pertama dari seluruh penyakit endokrin (Anonim, 2005).

DM adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat turunnya kadar hormon insulin yang diproduksi oleh kelenjer pankreas

(Corwin,2001). DM termasuk penyakit kronis. Pengobatan oral (Ganiswara,1995), modifikasi gaya hidup (pola makan sesuai, aktifitas fisik dan penurunan berat badan) dengan didukung program edukasi yang berkelanjutan (Corwin, 2001), penggantian sel pulau Langerhans dan insersi gen untuk insulin.

Kelenjer endokrin pancreas tersusun atas pulau Langerhans yang merupakan *Cluster* yang tersebar di sepanjang kelenjer eksokrin pancreas. Unit endokrin yang disebut sebagai pulau Lngerhans memiliki 4 macam sel, yaitu sel alfa, sel beta, sel delta dan sel PP (*Polipeptida Pancreas*) (Seungbum et al, 2007). Sel Beta menghasilkan hormone insulin dan berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Perubahan histopatologi pulau Langerhans pada penderita Diabetes telah dilaporkan sejumlah peneliti. Perubahan ini dapat terjadi baik secara kuantitatif, seperti pengurangan jumlah dan ukuran, maupun secarakualitatif, seperti terjadi nekrosis, degenerasi dan amyloidosis.

Kerusakan sel-sel beta pankreas dapat disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut diantaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenetik, dan radikal bebas (stress oksidatif). Senyawa aloxan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel beta pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes. Kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemi). Kondisi hiperglikemia menurut Robertson et al (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS = reactive oxygen spesies). Reactive Oxygen Spesies yang

berlebihan dapat menyebabkan stress oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel beta pankreas.

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil karena memiliki electron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga sangat reaktif untuk mendapatkan pasangan electron dengan mengikat sel-sel tubuh. Apabila hal tersebut terjadi secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Kereaktifan radikal bebas dapat menimbulkan berbagai penyakit degenerative seperti Diabetes Melitus (Latief dkk,2001). Peningkatan kadar glukosa dalam darah disebabkan oleh kerusakan pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin. Kerusakan pankreas ini disebabkan oleh peroksidasi lipid yang dapat menghasilkan metabolit sekunder. Salah satunya adalah *Malondialdehid* (MDA) yang merupakan hasil akhir dari peroksidasi lipid (Josephy, 1997). Pada penelitian Mahdi dkk. (2003) menunjukkan adanya peningkatan *Malondialdehid* dan penurunan aktivitas antioksidan pada tikus diabetes yang terinduksi streptozosin.

Beberapa senyawa yang sering dijadikan petunjuk adanya kerusakan akibat radikal bebas ini adalah MDA, glutathion (GSH) dan enzim katalase. MDA merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas. GSH memegang peranan dalam reaksi penguraian peroksida menjadi air. Enzim katalase memiliki peranan proses penguraian peroksidase menjadi air dan oksigen. MDA merupakan salah satu senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas oksidan (radikal bebas) dalam sel, sedangkan glutathion dan katalase menggambarkan aktivitas antioksidan dalam sel. Katalase adalah enzim antioksidan yang secara spesifik mengkatalisis dekomposisi hidrogen peroksida (Sulistyowati T, 2000). Pemeriksaan kadar MDA darah menggunakan metode Placer, Cushman, dan

Johnson. Aktivitas katalase memakai metode kalorimetrik dengan menggunakan alat Spektrofotometer "Spectronic 21". (Sulistyowati T, 2000).

Tingginya kadar glukosa diduga menghalangi aktivitas antioksidan endogen. Sebuah penelitian tentang pengaruh berbagai tingkat kadar glukosa terhadap enzim katalase, ditemukan penurunan aktivitas enzim pada kadar glukosa yang tinggi (Udoh, 2007). Pada penelitian lainnya ditemukan bahwa aktivitas katalase yang ditingkatkan melalui manipulasi transgenic-spesifik dapat melindungi jantung dari progresi penyakit diabetes (Ye, 2004). Tingginya radikal bebas dalam tubuh ditunjukkan oleh rendahnya aktivitas enzim antioksidan, salah satunya enzim katalase.

Pengobatan DM saat ini dilakukan dengan mengkombinasikan antara antidiabetes dan antioksidan. Hal ini disebabkan obat antidiabetes tidak bekerja memperbaiki sel pankreas- β yang rusak akibat radikal bebas, tetapi hanya menstimulasi pelepasan insulin dari sel pankreas- β (Adyana dkk.,2004). Selain itu pengobatan diabetes menggunakan antioksidan juga dapat mencegah terjadinya komplikasi diabetes (Aslan,2007).

Pencarian antioksidan dari tanaman banyak menarik perhatian karena dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Senyawa antioksidan yang dihasilkan dari tumbuhan seperti vitamin C, vitamin E, karoten, golongan fenol terutama polifenol dan flavanoid diketahui berpotensi mengurangi resiko penyakit degenerative (Prakash, 2001). Antioksidan sintesis seperti Butill Hidroksi anisol (BHA), Butill Hidroksi Toluen (THT) dan propel galat memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan (Han dkk, 2004) tetapi dapat menyebabkan karsinogenesis. Menurut

hasil penelitian yang dilakukan oleh Haryatmi (2004) menunjukkan bahwa pemberian vitamin E sebagai antioksidan belum mampu menurunkan kadar lemak peroksida darah. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang sumber antioksidan lain yang dapat menangkal radikal bebas.

Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) merupakan salah satu tanaman yang dijadikan sebagai sumber antioksidan. Di beberapa daerah, masyarakat menggunakan bunga rosella ini sebagai teh, biasanya disebut teh merah. Teh Rosella sudah dipasarkan di berbagai daerah di Indonesia, tetapi belum mencapai seluruh pasar yang dituju, masyarakat secara luas belum mengenal lebih jauh mengenai teh rosella. Dan juga teh rosella mempunyai harga relatif lebih tinggi dibandingkan teh biasa, tapi untuk sekarang teh rosella sudah yang diproduksi sudah mempunyai merek dagang dari masing-masing perusahaan.

Menurut Depkes RI, kelopak bunga rosella mengandung vitamin C, vitamin D, vitamin B1, B2, niacin, riboplavin, betakaroten, zat besi, asam amino, polisakarida, omega 3, kalsium. Tiap 100 gram kelopak bunga rosella mengandung vitamin C yang cukup tinggi, yaitu sekitar 260-280 mg (Maryani dan Kristiana, 2008).

Banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui kandungan dan manfaat rosella. Pada penelitian yang dilakukan Arellano et al (1997), didapat kandungan vitamin A, vitamin C, theaflavins, cathechins. Kandungan theaflavin dan cathechins membantu menjaga kolesterol dalam darah dengan cara membatasi penyerapan kolesterol dan meningkatkan pembuangan kolesterol LDL dari hati. Vitamin C berfungsi dalam menetralkan lemak dalam tubuh, sehingga bermanfaat untuk body slimming, body firming. Vitamin A dan vitamin C menjaga,

mempertahankan dan meningkatkan kesehatan tubuh serta mencegah penuaan dini dan munculnya katarak. Vitamin A, vitamin C dan kalsium berguna untuk kesehatan mata, kulit dan tulang sedangkan serat untuk memperbaiki sistim pencernaan.

Berdasarkan pengamatan penulis, belum ada penelitian ilmiah yang dilakukan dalam membuktikan manfaat dari bunga rosella terhadap kadar malondialdehid dan aktifitas enzim katalase pada tikus hiperglikemia, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap kadar MDA dan kadar enzim katalase pada tikus putih hiperglikemia yang di induksi aloxan.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap kadar MDA pada tikus hiperglikemia yang di induksi aloxan ?
- 1.2.2 Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap aktivitas enzim katalase pada tikus hiperglikemia yang di induksi aloxan ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap kadar MDA dan aktivitas enzim katalase pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap kadar MDA pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan.

1.3.2.2 Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap aktivitas katalase pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Ilmu Pengetahuan

Memberikan informasi ilmiah mengenai peranan pemberian ekstrak kelopak bunga rosella terhadap kadar MDA dan aktivitas katalase pada tikus yang diinduksi aloxan.

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Memberikan alternatif obat alami dalam mengatasi penyakit yang disebabkan karena tingginya kadar gula darah.

1.4.3 Manfaat Institusi Pendidikan

Dapat dijadikan literatur untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Militus

2.1.1. Definisi

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikimia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya yang berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau beberapa kegagalan organ tubuh. Jika telah berkembang penuh secara klinis ditandai dengan hiperglikimia puasa dan posprandial, aterosklerotik dan penyakit faskuler mikroangiopati (Setyohadi *et al*, 2006).

2.1.2. Klasifikasi

American Diabetes Association (ADA), dalam standar of medical care in diabetes (2009) memberikan klasifikasi DM menjadi 4 tipe yaitu:

- 1) Diabetes tipe 1 yaitu diabetes yang dikarenakan oleh adanya destruksi sel β pankreas yang secara absolut menyebabkan defisiensi insulin, melalui proses imonologik dan ideopatik
- 2) Diabetes militus tipe dua yaitu diabetes yang dikarenakan oleh adanya kelainan sekresi insulin yang progresive dan adanya resistensi insulin.
- 3) Diabetes militus tipe lain:
 - a. Defek genetik fungsi beta:
 - i. Kromosom 12, HNF-1 α (dahulu MODY 3)
 - ii. Kromosom 7, glukokinase (dahulu MODY 2)

- iii. Kromosom 20, HNF-4 α (dahulu MODY 1)
- iv. Kromosom 13, insulin promoter faktor-1 (IPF-1, dahulu MODY 4)
- v. Kromosom 17, HNF-1 β (dahulu MODY 5)
- vi. Kromosom 2, Neuro DI (dahulu MODY 6)
- vii. DNA Mitokondria
- viii. Lainnya
 - b. Defek genetik kerja insulin : resistensi insulin tipe A, leprechaunism, sindrom rabson mendelhall, diabetes lipohatrofik, lainnya.
 - c. Penyakit Eksotrin Pankreas : pankreatitis, trauma / pankreatectomi, neoplasma, fibrosis kistik, hemakromatosis, pankreatopati fibrokalkulus, lainnya.
 - d. Endokrinopati : akromegali, sindrom cushing feokromositoma, hipertiroidisme somatostatinoma, aldosteronoma, lainnya.
 - e. Karena obat / Zat Kimia : vacor, pentamidin, asam nikotinat, glukokortikoid, hormon tiroid, diazoxid, agonis β adrenergik, tiazid, dilantin, interferon alfa, lainnya.
 - f. Infeksi : rubella congenital, CMV, lainnya
 - g. Imonologi (jarang) : sindrom “stiff-man”, antibody anti reseptor insulin, lainnya
 - h. Sindrom genetik lain : sindrom Down, sindrom Klinefelter, sindrom Turner, sindrom Wolfram’s, ataksia Friedreich’s,

chorea Huntington, sindrom Laurence-Moon-Bield, distrofi miotonik, porfiria, sindrom Prader Willi, lainnya

- 4) Diabetes kehamilan yaitu Tipe diabetes yang terdiagnosa atau dialami selama kehamilan (Gustaviana, 2006).

2.1.3 Prevalensi

Diabetes Melitus merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas, selain itu DM juga mempunyai pengaruh yang sangat besar dalam alokasi biaya untuk pelayanan kesehatan. Prevalensi penyakit DM telah mencapai tingkat atau proporsi epidemik di beberapa negara dan menjadi sebuah perhatian yang penting dalam dunia kesehatan (Darmono, 2007).

World Health Organization (WHO) memprediksi kenaikan jumlah pasien dari 84 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Jumlah tersebut menempati urutan ke 4 setelah India (31,7 juta), China (20,8 juta), dan Amerika Serikat (17,7 juta). Diperkirakan transprensi tersebut akan terus meningkat pada tahun 2030, India (79,4 juta), China (42,3 juta), Amerika Serikat (30,3 juta), dan Indonesia (21,3 juta). (Darmono 2007).

2.1.4 Patofisiologi

Manifestasi klinis diabetes militus (hiperglikemi dan ketosis) terjadi jika lebih dari 90% sel-sel beta rusak (Lawrence, 1994 : Karam et al, 1996). Faktor lingkungan juga berpengaruh, terutama infeksi virus, misalnya coxaackievirus, mumps, measles, CMV, rubella dan infeksi mononucleosis. Virus-virus ini tidak secara langsung menyebabkan

kerusakan sel beta namun lewat pembentukan autoantibody. Pertama, infeksi memicu kerusakan jaringan dan peradangan yang berakibat dilepaskannya antigen sel beta dan aktivasi limfosit serta lekosit peradangan pada jaringan. Kedua, virus ini memproduksi protein yang mirip self antigen dan respon imun yang seharusnya bereaksi dengan protein virus justru bereaksi silang dengan self antigen ini (Rowland and Bellus, 1989 : Khan, 1995).

DM tipe 2 mencakup lebih dari 90% dari semua kasus diabetes. Diabetes tipe 2 ditandai dengan kelainan sekresi insulin dan kerja insulin. Pada pasien dengan diabetes tipe 2 terdapat kelainan dalam pengikatan insulin dengan reseptor. Kelainan ini dapat disebabkan oleh berkurangnya jumlah tempat sel reseptor pada membrane sel yang selnya responsive terhadap insulin atau akibat ketidaknormalan reseptor insulin. Pada awalnya tampak terdapat resistensi dari sel target terhadap kerja insulin sehingga terjadi gangguan transport glukosa menembus membran sel. Hal ini menyebabkan sel beta terus untuk memproduksi insulin sehingga insulin dalam darah meningkat, namun tidak dapat mempertahankan euglikemia karena terjadi resistensi insulin tersebut. Pada akhirnya timbul kegagalan sel beta memproduksi insulin dengan menurunnya jumlah insulin yang beredar dan tak lagi memadai untuk mempertahankan euglikemia (Schteingart, 1994).

2.2 **Hyperglikemi, Abnormalitas Metabolisme dan Radikal Bebas**

Hiperglikemi merupakan keadaan peningkatan glukosa darah dari pada rentang kadar puasa normal 80 – 90 mg/dl darah, atau rentang non puasa sekitar 140 – 160 mg/ 100 ml darah (Elizaberh J. Corwin, 2001). Kadar gula darah pada tikus diberi batasan normal 50 – 109 ml/dl. Sehingga yang dikatakan hiperglikemi pada tikus dengan kadar ≥ 109 ml/dl (Rachael, 2010).

Hiperglikemi kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemi kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi mikrofaskular pada penderita diabetes mellitus. Efek hiperglikemik dapat merusak jaringan yang tergantung insulin (insulin independent tissue). Dalam keadaan normal sebagian besar glukosa mengalami metabolisme lewat jalur glikolisis dan pentose shunt. Apabila terjadi hiperglikemi, pembuangan glukosa lewat jalur tersebut diatas cenderung meningkat sehingga glukosa juga diubah menjadi sorbitol lewat jalur polyol, glucosamine-6 phosphate lewat jalur hexosamine dan enzim glucosamine fructose amidotransferase (GFAT), dan diacylglycerol (DAG) lewat sintesis de novo dari glukosa langsung. (Rachael, 2010).

Sebagian glukosa yang berlebih mengalami reaksi non enzimatis, dengan protein atau bahan dalam sirkulasi maupun jaringan sehingga mempercepat secara fisiologis glikasi non enzimatis. Disamping itu glukosa mengalami autooksidasi, yang berakibat bersama dengan radikal bebas yang terbentuk dari beberapa reaksi enzimatis maupun non enzimatis, menjadi stress oksidatif. Reaksi-reaksi tersebut diatas saling terkait satu sama lain, bahkan kadang saling memperkuat. Sering kali

stress oksidatif dianggap sebagai a single unifying mechanism dan aktivasi PKC (protein kinase C) sebagai final common pathway. (Rachael,2010).

Teori yang berkembang dan diharapkan dapat menjelaskan terjadinya komplikasi mikroangiopati karna hiperglikemi kronik adalah : (a) teori polyol phatway ; (b) teori AGEPs ; (c) teori reaktif oksigen intermediates dan (d) teori protein kinase C (PKC). (Rachael,2010).

2.3 Aloksan

2.3.3 Aloxan

Aloxan adalah satu subtract yang secara structural merupakan derifat perimidin sederhana. Aloxan telah digunakan secara luas untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan. Senyawa diabetogenik ini secara selektif bekerja pada sel β pancreas yang bertanggung jawab untuk memproduksi insulin. .(Szkudelski, 2001).

2.3.4 Efek Aloxan

Aloxan merupakan senyawa glukose toxik analogue. Aloxan dalam darah berikatan dengan GLUT-2 (pengangkut glukosa) yang memfasilitasi masuknya aloxan ke dalam sitoplasma sel beta pancreas. Di dalam sel beta, aloxan menimbulkan depolarisasi berlebih pada mitokondria sebagai akyat pemasukan ion Ca^{2+} yang diikuti dengan penggunaan energy berlebih sehingga terjadi kekurangan energy dalam sel. Dua mekanisme ini mengakibatkan kerusakan baik dalam jumlah sel maupun masa sel pancreas sehingga terjadi penurunan pelepasan insulin yang mengakibatkan terjadinya hiperglikemi.

Beberapa teori lain menerangkan bahwa aloxan dapat membangkitkan reactive oxygen species (ROS) melalui siklus reaksi yang hasil reduksinya berupa dialuric acid. Dialuric acid ini akan mengalami siklus redoks dan membentuk radikal superoxide. kemudian radikal ini akan mengalami dismutase menjadi hydrogen peroksida dan pada tahap akhir mengalami reaksi katalisasi besi membentuk radikal hidroxil.

Radikal hidroxil ini yang menyebabkan kerusakan pada sel β pancreas sehingga terjadilah insulin dependen diabetes mellitus atau disebut juga aloxan diabetes pada hewan percobaan. Diabetes tipe ini memiliki karakteristik yang serupa dengan diabetes tipe 1 pada manusia. Oleh karena itu, pemberian aloxan merupakan suatu cara yang tepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Hewan yang mengalami kondisi diabetic aloxan tidak sama sekali kehilangan insulin. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan 120-150 mg/kg BB. (Szkudelski, 2001).

2.4 Radikal Bebas

2.4.3 Definisi radikal bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki electron yang tidak berpasangan (unpaired electron) pada bagian terluar orbitnya, sehingga menjadi komponen yang tidak stabil dan menjadi sangat reaktif. Electron yang tidak berpasangan ini, akan berusaha menarik electron dari molekul lainnya untuk mendapatkan kembali konfigurasi pasangan electron, oleh karena itu radikal bebas sangat reaktif. Sebuah radikal bebas

yang berhasil mengambil electron dari suatu molekul lain yang stabil, akan menyebabkan molekul tersebut kehilangan satu electron dan akibatnya akan berubah menjadi radikal bebas baru. Proses rantai ini dapat menyebabkan perubahan struktur pada molekul lainnya (Pham-Huy et al, 2008).

Dalam kepustakaan kedokteran pengertian radikal bebas sering dibaurkan dengan oksigen, karna keduanya memiliki sifat-sifat yang mirip. Aktivitas keduanya sering menghasilkan akibat yang sama, akan tetapi sebenarnya melalui proses yang berbeda. Keduanya harus dibedakan. Oksidan mempunyai pengertian senyawa penerima electron (electron akseptor). Jadi radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas (Suryo Handoyo, 2000).

2.4.4 Sumber radikal bebas

Pembentukan radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh dan luar tubuh. Adapun sumber radikal bebas antara lain (Pham-Huy et al, 2008) :

1. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, yang timbul sebagai akibat dari berbagai proses enzimatik di dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada proses respirasi sel, pada proses pencernaan dan pada proses metabolisme. Diproduksi oleh mitokondria, membran plasma lisosom, retikulum endoplasma dan inti sel
2. Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh, yang timbul sebagai akibat dari bermacam-macam proses non enzimatik

didalam tubuh, merupakan reaksi oksigen dengan senyawa organic dengan cara ionisasi dan radiasi. Contohnya adalah proses inflamasi dan ischemia.

3. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh, yang didapat dari polutan, seperti asap rokok, asap kendaraan bermotor, radiasi sinar matahari, makanan berlemak, kopi, alcohol, obat dan bahan racun, pestisida, minyak goreng jelantah (deep frying) dan masih banyak lagi yang lainnya. Peningkatan radikal bebas pun dapat dipicu oleh stress atau olah raga yang berlebihan.

2.4.5 Sifat radikal bebas

Radikal bebas memiliki dua sifat yaitu :

1. Reaktifitas tinggi, karena kecenderungannya menarik electron.
2. Dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal oleh karena hilangnya atau bertambahnya satu electron pada molekul lain.

Namun perlu diingat bahwa radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal bebas. Hal ini disebabkan oleh ke dua sifat radikal bebas diatas, yaitu reaktifitas yang tinggi dan kecendrungan membentuk radikal bebas baru yang pada gilirannya nanti apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai (chain reaction) (Halliwell dan Gutteride, 2007).

Perusakan sel oleh radikal bebas reaktif didahului oleh kerusakan membrane sel, melalui terjadinya rangkaian proses sebagai berikut :

1. Terjadi ikatan kofalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membrane (enzim-enzim membrane, komponen karbohidrat membrane plasma), sehingga terjadi perubahan stuktur dari fungsi reseptor.
2. Oksidasi gugus tiol pada komponen membrane oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transport lintas membrane terganggu.
3. Reaksi peoksidasi lipid dan kolesterol membrane yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA = poly unsaturated faty acid). Hasil peroksidasi lipid membrane oleh radkal bebas, berefek langsung terhadap kerusakan membrane sel, antara laian dengan mengubah fluiditas, struktur dan fungsi membrane dalam kedaan yang lebih ekstrim akhirnya akan menyebabkan kematian sel.

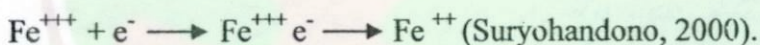
Efek biologik peroksidasi lipid membran bergantung antara lain pada populasi sel yang bersangkutan dan profil asam lemak pada membran fosfolipid. Contoh membran mitokondria dan mikrosom sensitif terhadap peroksidasi lipid karena kandungan PUFA pada fosfolipid pada membran cukup tinggi. Umumnya semua membran peka terhadap reaksi peroksidai lipid dalam derajat yang berbeda-beda. Kerusakan struktur subseluler secara langsung mempengaruhi pengaturan metabolisme. Sebagai contoh adalah disrupsi membran lisosom menyebabkan pelepasan enzim-enzim hidrolitik lisosom yang selanjutnya mampu mengakibatkan

perusakan intraseluler, dan memperkuat kemampuan radikal bebas dalam menginduksi kerusakan sel (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

2.4.6 Radikal Bebas dan Oksidan

Dalam kepustakaan kedokteran, pengertian radikal bebas dan oksidan sering dibaurkan karena keduanya memiliki sifat-sifat yang mirip. Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi, sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Aktivitas kedua jenis senyawa ini sering menghasilkan akibat yang sama walaupun prosesnya berbeda. Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas. (suryohandono, 2000: Syahbudin, 2000).

Oksidan adalah senyawa penerima elektron (electron acceptor) atau senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron. Contohnya ion feri (Fe^{+++}).

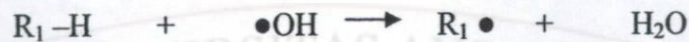
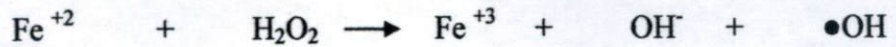


Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tak berpasangan. Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal bebas. Hal ini disebabkan sifat radikal bebas yang mempunyai reaktivitas tinggi dan kecenderungan membentuk radikal baru, yang ada pada gilirannya apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*). (Clarckson and Thompson, 2000: Suryohandono, 2000)

2.4.7 Reaksi Pembentukan Radikal Bebas

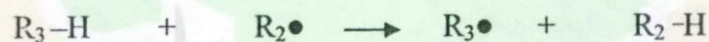
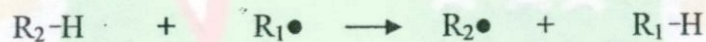
Seluruh reaksi radikal bebas dapat dijabarkan menjadi 3 tahap, yaitu:

1) Inisiasi



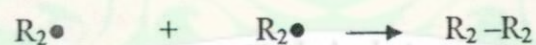
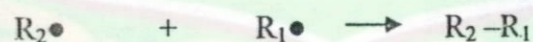
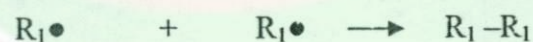
Pada tahap ini dengan adanya oksigen bebas akan terjadi pengambilan atom H dari *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang terdapat pada membran sel sehingga menyebabkan kerusakan pada sel.

2) Propagasi



Hasil dari reaksi ini akan menjadi inisiator baru untuk bereaksi dengan PUFA yang lain sehingga menghasilkan produk radikal baru.

3) Terminasi

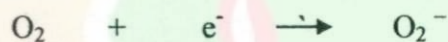


dan seterusnya (Suryohandono, 2000).

Tahap ini mengkombinasikan dua radikal menjadi suatu produk non-radikal derajat peroksidasi lipid dapat ditunjukkan dengan kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi PUFA. (Murray *et al.*, 2000).

2.4.8 Senyawa Oksigen Reaktif

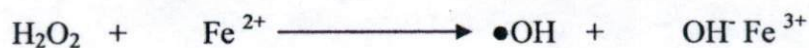
Oksigen yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses biologis alami dan melibatkan senyawa yang disebut dengan senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen compound*), yang dalam bentuk seperti radikalhidroksil ($\bullet\text{OH}$), radikal peroksil ($\bullet\text{OOH}$), ion superoksida ($\text{O}_2\bullet$), singlet oksigen ($^1\text{O}_2$), hydrogen peroksida (H_2O_2), dan ion Hipoklorit (ClO^-), (Suryohandono, 2000). Oksigen kalau mendapat tambahan electron (mengalami reduksi) akan menghasilkan radikal ion superoksida.



Senyawa radikal ini merupakan radikal bebas yang lemah. Dalam keadaan normal, sekitar 1-3% dari oksigen yang kita pakai digunakan untuk membentuk superoksida. Ion superoksida dengan bantuan superoksida dismutase akan diubah menjadi hydrogen peroksida.



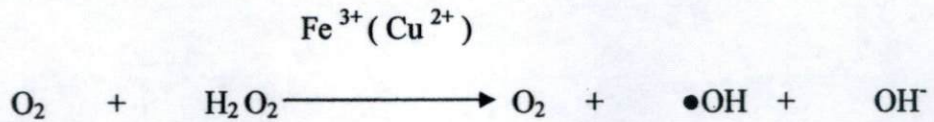
Hidrogen peroksida merupakan senyawa yang penting karena senyawa ini dapat terurai dengan mudah, khususnya kalau terdapat ion metal transisi sehingga terbentuk radikalhidroksil. Radikal jenis ini paling reaktif dan paling merusak.



(Reaksi Fenton)

Reaksi antara Fe dengan H_2O_2 yang menghasilkan radikal hidroksil, disebut dengan reaksi fenton. Keberadaan senyawa oksigen reaktif bersamaan

dengan H_2O_2 juga menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi Haber Weiss, yang memerlukan Fe^{3+} dan Cu^{2+}



(Reaksi Haber – Weiss) (Suryohandono, 2000)

2.4.9 Dampak Negative Senyawa oksigen Reaktif

Senyawa-senyawa oksigen reaktif semuanya merupakan oksidan yang kuat, walaupun derajat kekuatannya berbeda-beda. Di antara senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktivitasnya sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel, yaitu:

1. Asam lemak, khususnya asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel.

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ini (asam-asam linoleat, linoleat, dan arakidonat) sangat rawan terhadap serangan-serangan radikal, terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid.



Asam lemak

Radikal lipid



Radikal peroksilipid



Akibat akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehida, seperti *malondialdehida* (MDA), 9-hidroksi-nonenal serta bermacam-macam hidrokarbon, seperti etana ($\text{C}_2 \text{H}_6$) dan pentane ($\text{C}_5 \text{H}_{12}$). Dapat pula terjadi ikatan silang (*cross-linking*) antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptide yang timbul karena reaksi dua radikal :



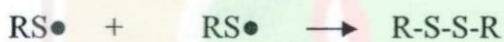
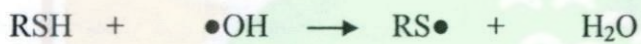
Semuanya itu menyebabkan kerusakan-kerusakan parah membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel.

2. DNA, yang merupakan perangkat genetik sel.

Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA, antara lain berupa: hidrosilasi timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tidak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh system perbaikan DNA (*DNA repair system*). Namun apabila kerusakan terlalu parah, misalnya rantai DNA terputus-putus di berbagai tempat, maka kerusakan itu tidak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu. Susahnya, perbaikan DNA ini justru sering menimbulkan mutasi, karena dalam memperbaiki DNA, sistem perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan (*error prone*), dan apabila mutasi ini mengenai gen-gen tertentu, maka mutasi tersebut dapat menimbulkan kanker.

3. Protein, yang memegang peranan penting seperti enzim, reseptor, antibody, dan pembentuk matrik serta sitoskeleton.

Radikal dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam-asam amino yang menyusun protein. Di antara asam-asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugusan sulfhidril (SH) dan justru gugusan inilah yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil.



Perkembangan ikatan disulfide (-S-S-) menimbulkan ikatan intra atau antar molekul sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya, misalnya enzim kehilangan aktivitasnya. (Suryohandono, 200).

2.5 Anti Oksidan

1. Definisi antioksidan

Kalau radikal bebas adalah penerima electron (electron acceptor), maka antioksidan adalah pemberi electron (electron donor). Antioksidan dapat didefinisikan sebagai zat yang dapat menghambat/memperlambat proses oksidasi. Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hydrogen atau pelepasan electron. Proses oksidasi adalah peristiwa alami yang terjadi di alam dan dapat terjadi dimana-mana, tak terkecuali di dalam tubuh kita (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi electron, tetapi dalam arti biologis pengertian antioksidan lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negative oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam (Pangkahila, 2007).

2. Jenis Antioksidan

Berdasarkan dua mekanisme pencegahan dampak negatif oksidan, maka antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan (Murray *et al.*, 2000), yaitu:

a. Antioksidan pencegah (*preventive antioxidants*)

Pada dasarnya tujuan antioksidan ini mencegah terjadinya radikal hidroksil, yaitu radikal yang paling berbahaya. Diperlukan tiga komponen untuk terbentuknya radikal hidroksil, yaitu logam transisi Fe atau Cu, H_2O_2 dan ion superoksid. Agar reaksi Fenton tidak terjadi, maka harus dicegah keberadaan ion Fe^{2+} atau Cu^{2+} bebas. Untuk itu berperan beberapa protein penting, yaitu transferin atau feritin (untuk Fe) dan seruloplasmin atau albumin (untuk Cu).

Penimbun ion superoksid (O_2^-) dapat dicegah oleh enzim SOD (superoksid dismutase) dengan mengkatalisis reaksi dismutase ion superoksid:



Penimbunan H_2O_2 dapat dicegah melalui aktivitas dua enzim, yaitu katalase (mengkatalisis reaksi dismutasi H_2O_2) dan peroksidasi.

b. Antioksidan pemutus rantai (*chain-breaking antioxidants*)

Dalam kelompok ini terdapat vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), beta karoten, glutathione sistein. Vitamin E dan beta karoten bersifat lipofilik, sehingga dapat berperan pada membrane sel untuk mencegah peroksidasi lipid. Sedangkan vitamin C, glutathione dan sistein bersifat hidrofilik dan berperan dalam sitosol.

2.6 Stres Oksidatif

Stres oksidasi (*oxidative stress*) secara terminologi menunjukkan adanya produksi radikal bebas yang berlebihan melebihi kapasitas perlindungan antioksidan. Radikal bebas adalah substansi yang mempunyai satu atau lebih electron tidak berpasangan. Radikal bebas yang berasal dari oksigen diklasifikasikan sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS), termasuk disini radikal superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^\cdot) dan radikal hydrogen peroksida (H_2O_2). Enzim yang berperan dalam peningkatan produksi ion superoksida termasuk rantai transport electron mitokondria, NAD(P)H Oxidase, dan Xanthine Oxidase, serta eNOS (Rush *et al.*, 2005).

Di dalam tubuh, ROS secara konstan diproduksi dan dieliminasi, selama sel masih memiliki pertahanan endogen melawan zat oksidan tersebut. Diduga bahwa kadar yang rendah ROS berperan dalam fisiologi *signaling* antar sel secara

normal, atau penting untuk memelihara homeostatis. Sedangkan produksi ROS yang berlebihan atau terjadinya kerusakan perlindungan terhadap ROS menimbulkan stress oksidasi, sehingga mengakibatkan terjadinya beberapa kelainan patologis (Rush *et al.*, 2005).

2.7 Hubungan Diabetes dengan Radikal Bebas

Hiperglikimia pada DM atau DM yang tidak terkontrol akan meningkatkan produksi radikal bebas yang ditandai oleh peningkatan kadar *thiobarbituricn reaktif substance* (TBARs) dalam plasma. Hiperglikemi kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemi kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi mikrovaskuler pada penderita diabetes militus.

Dalam keadaan normal sebagian besar glukosa mengalami metabolisme lewat jalur glikolisis dan pentose shunt. Apabila terjadi hiperglikemi, pembuangan glukosa terhadap jalur di atas cenderung meningkat sehingga glukosa di ubah menjadi sorbitor lewat jalur poliol, glucosamine-6-pospate lewat jalur hexosamine dan enzim glucosaminefructose-amidotransferase (GFAT), dan diacylglycerol (DAG) lewat sintesis *de novo* dari glukosa langsung. Sebagian glukosa yang berlebih mengalami reaksi non enzimatik, dengan protein atau bahan dalam sirkulasi maupun jaringan sehingga mempercepat fisiologis glikasi non enzimatik. Disamping itu glukosa mengalami otooksidasi, berakibat, bersama dengan radikal bebas yang terbentuk dari beberapa reaksi enzimatik maupun non enzimatik, menjadi stress oksidatif reaksi-reaksi tersebut di atas saling terkait satu sama lain bahkan kadang saling memperkuat. Sering kali stress oksidatif dianggap sebagai α

single unifying mechanism dan aktivasi PKC (Protein kinase C) sebagai *final common pathway*. (Mayes, 2003: Djokomoeljanto, 2007).

Mekanisme terjadinya komplikasi hiperglikemi pada diabetes militus dengan pathogenesis terjadinya stress oksidatif dapat diterangkan melalui beberapa teori sebagai berikut: (a) teori polyol pathway, (b) teori AGEPs, (c) teori reactive oxygen intermediates dan (d) teori protein kinase C (PKC). (Mayes, 2003: Djokomoeljanto, 2007).

1) Peningkatan aktivitas aldosa reduktase (teori jalur polyol).

Sebagai akibat hiperglikemia, dalam jaringan terjadi peningkatan kadar glukosa. Oleh enzim aldosa reduktase (AR), kelebihan glukosa tersebut akan dirubah menjadi sorbitol, yang berakibat meningkatnya kadar sorbitol di dalam sel. Akumulasi sorbitol akan meningkatkan osmolaritas yang tinggi menunjukkan penurunan pada aktivitas protein kinase C dan Na⁺, K⁺-ATPase membrane. Jalur poliol dari metabolisme glukosa menjadi aktif bilamana kadar glukosa intraseluler meningkat. Aldose reduktase (AR), mereduksi glukosa menjadi sorbitol menggunakan NADPH sebagai suatu kofaktor, sorbitol kemudian dimetabolisme menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase yang menggunakan NAD⁺ sebagai kofaktor. Sorbitol merupakan suatu alcohol, polyhydroxylated, dan hidrofilik yang kuat, oleh karena itu tidak dapat berdifusi secara langsung melalui membrane sel dan terakumulasi secara intraseluler sebagai akibat daya osmotic. (Lorenzi, 2007)

Fruktosa yang diproduksi oleh jalur poliol dapat di fosforilasi menjadi fruktosa-3-fosfat, yang kemudian dipecah menjadi 3

deoxyglukosone, kedua senyawa tersebut merupakan agen glikosilasi kuat yang nantinya akan masuk kedalam mekanisme pembentukan Advance Glycation Endproducts (AGEs). Penggunaan NADPH oleh AR dapat menyebabkan persediaan kofaktor bagi enzim *glutathione reduktase* menjadi berkurang, hal ini menyebabkan keadaan kritis dalam mempertahankan cadangan intraseluler glutathione yang tereduksi (GSH). Hal ini dapat mengurangi kemampuan sel terhadap respon stress oksidatif. Sebagai kompensasinya, terjadi peningkatan aktifitas glucose monophosphate shunt, yang merupakan penyalur NADPH seluler yang paling utama. Penggunaan NAD oleh sorbitol dehidrogenase menyebabkan peningkatan rasio NADH/NAD⁺, yang dikenal dengan istilah “pseudohipoksia” dan berhubungan pada sejumlah besar perubahan metabolic dan perubahan sinyal yang diketahui dapat menyebabkan perubahan fungsi sel. Diyakini bahwa NADH yang melimpah mungkin dapat menjadi substrat bagi NADH oksidase, dan dengan demikian akan terjadi pembentukan spesies oksidan intraseluler. Sebagai akibat peningkatan jalur poliol ini maka terjadi perubahan metabolic dan perubahan sinyal pada sel yang mampu menginisiasi dan memperbanyak mekanisme yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel.

2) Glikosilasi non enzimatik dan pembentukan Advanced Glycation Endproduct (AGEs).

Teori ini menerangkan bahwa komplikasi diabetic merupakan bentuk dari “proses menua yang dipercepat” dan terjadi karena modifikasi kovalen dan crosslinking protein oleh glukosa. AGEs merupakan produk

akibat glikasi nonenzimatik protein yang beragam dalam struktur kimiawinya. FFI, AFPG, *N-carboxymethyl lysine*, *pyrralin*, dan pentodin adalah contoh dari AGEs.

Glukosa adalah suatu aldehyd yang bersifat reaktif, yang dapat bereaksi secara spontan, walaupun lambat dengan protein. Melalui proses yang disebut dengan glikosilasi non enzimatik, protein mengalami modifikasi. Gugus aldehyd glukosa bereaksi dengan gugus amino yang terdapat pada suatu protein, membentuk produk glikosilasi yang bersifat reversible. Produk ini mengalami serangkaian reaksi dengan gugus NH_2 dari protein dan mengadakan ikatan silang membentuk *advanced glycation end-product* (AGEs). Glukosa juga dapat menjalankan glikasi secara langsung, dimana molekul glukosa secara kovalen berikatan dengan protein membentuk *Schiff base*. Molekul-molekul ini dapat melakukan penataan ulang membentuk *Amadori adduct*. *Amadori adduct* kemudian mengalami dekomposisi menjadi *deoxyglucose*, yang dianggap lebih reaktif dibanding gula turunannya. Pembentukan AGEs juga disebut dengan reaksi Maillard, yang merupakan rangkaian reaksi kimia yang terkait dalam rangkaian yang sangat rumit. Pembentukan AGEs melalui jalur klasik yaitu lewat reaksi Maillard antara glukosa atau gula tereduksi lainnya dan residu N-terminal amino acid dan atau gugus amino protein yang dikenal dengan *Schiff base* yang menghasilkan Amadori product seperti fructose lysine. Reaksi kemudian diikuti dehidrasi, succesiv..-elimination dan kondensasi.

Sebagian besar AGEs adalah bentuk yang tidak stabil, senyawa reaktif dan produk akhirnya sulit untuk dianalisis dengan lengkap. Akumulasi AGEs pada kolagen dapat menurunkan elastisitas jaringan ikat sehingga menimbulkan perubahan pada pembuluh darah dan membrane basalis. AGEs dapat dibentuk pada beberapa kondisi selama fermentasi, memasak, atau oksidasi di atmosfer. AGEs bersifat toksik dan dapat menginduksi mutagenesis bakteri. AGEs dibentuk dalam jumlah berlebih selama proses penuaan, diabetes militus, dan gagal ginjal. Terbentuknya AGEPs dapat merusak sel karena mengganggu struktur protein intrasel dan ekstrasel seperti kolagen. Pada endotel mikrovaskuler manusia, AGEs menghambat produksi prostasiklin dan mengakibatkan agregasi trombosit, stabilisasi fibrin hingga memudahkan thrombosis.

3) Stres oksidatif (Teori Pembentukan *Reactive Oxygen Species*).

Stres oksidatif timbul bila pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) melebihi kemampuan mekanisme seluler dalam mengatasi yang melibatkan sejumlah enzim dan vitamin yang bersifat antioksidan. Stress oksidatif pada diabetes mellitus dapat disebabkan karena gangguan keseimbangan redoks akibat perubahan metabolisme karbohidrat dan lipid, peningkatan *reactive oxygen species* akibat proses glikosilasi / glikoksidasi lipid dan penurunan kapasitas antioksidan.

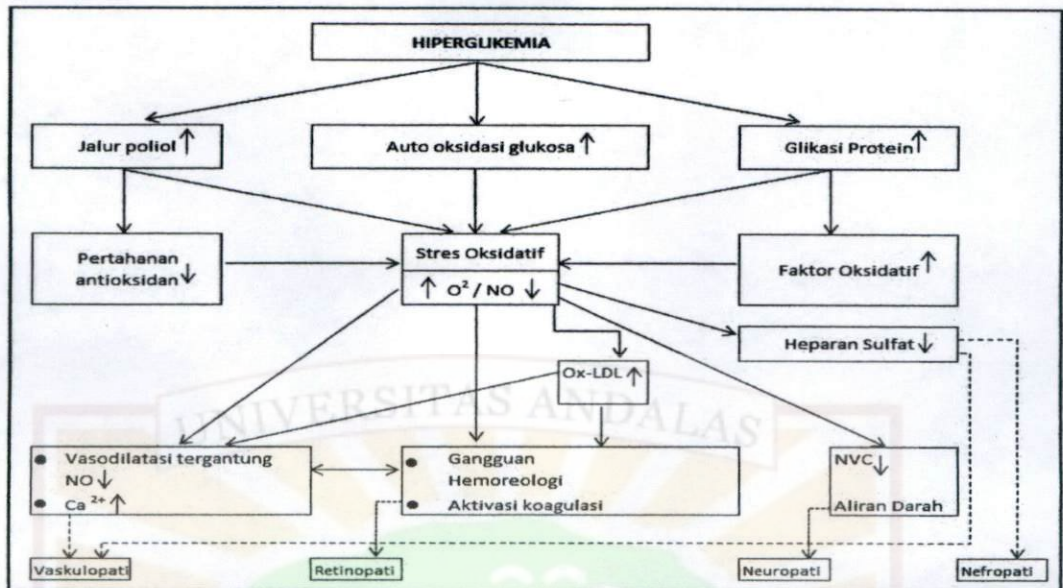
Ada tiga cara stress oksidatif meningkat yaitu, (a) glikasi yang labil; (b) atooksidasi glukosa; dan (c) aktivasi intrasel jalur poliol. Glikolisis dan siklus krebs menghasilkan energi yang ekuivalen untuk mendorong sintesis ATP mitokondria, sebaliknya hasil samping fosforilasi

oksidatif mitokondria (termasuk radikal bebas dan anion superoksida) juga ditingkatkan oleh kadar glukosa yang tinggi. Autooksidasi glukosa pun menaikkan radikal bebas menjadi stress oksidatif yang akan menurunkan kadar NO, merusak protein sel, meningkatkan adhesi lekosit pada endotel sedang fungsinya sebagai barrier terhambat.

4) Teori Protein Kinase C (PKC).

Diacylglycerol (DAG) dan protein kinase C (PKS) adalah molekul sinyal yang banyak berperan dalam faal vaskular seperti permeabilitas, vasodilatasi, aktivasi endotel, dan sinyal pertumbuhan. Phospholipase-C mengaktifkan pembentukan PKC dengan cara merangsang Ca^{2+} dan kadar DAG. Keadaan patofisiologi ini dapat ditemukan pada diabetes karena glycolytic-pathway flux meningkatkan glyceraldehydes-3phosphate intrasel, sintesis DAG dan akhirnya aktivasi PKC. Meningkatnya aksi PKC pada pembuluh retina, ginjal, dan saraf menyebabkankerusakan vaskuler yang ditandai dengan permeabilitas yang meningkat, disregulasi NO, terjadi adhesi lekosit, dan gangguan aliran darah.

Berbagai efek toksik hiperglikemia (efek langsung, imunologi, reologi, glikasi, oksidant, sorbitol dan sitokin) akan terjadi penyakit pembuluh darah (aterosclerosis, retinopati, neuropati, nefropati) (Syahbudin, 2000)



Gambar 2.1 Hiperглиkemia – Stress oksidatif – Komplikasi vaskuler menahun (Syahbudin, 2000)

2.8 Efek aloksan terhadap Sel beta Pankreas

Mekanisme aloksan menginduksi diabetes melitus aloksan telah digunakan secara luas untuk menginduksi diabetes melitus pada hewan percobaan. Terdapat beberapa teori yang menerangkan mekanisme kerja aloksan terhadap sel beta pankreas. Aloksan dalam darah berkaitan dengan GLUT-2 (pengangkut glukosa) yang memfasilitasi masuknya aloksan ke dalam sitoplasma sel beta pankreas. Didalam sel beta, aloksan menimbulkan depolarisasi berlebih pada mitokondria sebagai akibat pemasukan ion Ca^{2+} yang diikuti dengan penggunaan energi berlebih sehingga terjadi kekurangan energi dalam sel. Dua mekanisme ini mengakibatkan kerusakan baik dalam jumlah sel maupun massa sel pankreas sehingga terjadi penurunan pelepasan insulin yang mengakibatkan terjadinya DM. (Walde et al, 2002)

Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan aloksan 120-150 mg/kg BB (Szkudelski, 2001 : Nugroho, 2006).

2.9 Malondialdehid

MDA merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, dan biasanya digunakan sebagai *biomarker* biologis untuk menilai stress oksidatif (Suryohudoyo, 2000).

MDA adalah dialdehid dengan tiga rantai karbon dengan rumus $C_3H_4O_2$ yang sangat reaktif dan merupakan senyawa yang dihasilkan oleh peroksidalipid dalam tubuh. Peroksidalipid adalah reaksi oksidasi radikal bebas dengan lipid membrane sel jaringan tubuh atau dengan asam-asam lemak tidak jenuh (PUFA). Akibat akhir dari reaksi rantai ini adalah terputusnya rantai karbon asam lemak yang menghasilkan berbagai senyawa aldehyd-aldehyd seperti malondialdehid, 9-hidroksi-nonenal serta senyawa hidro karbon seperti etana dan pentane yang bersifat toksik terhadap sel. (Suryohandono, 2000; Kriscahyo *et al.*, 2003)

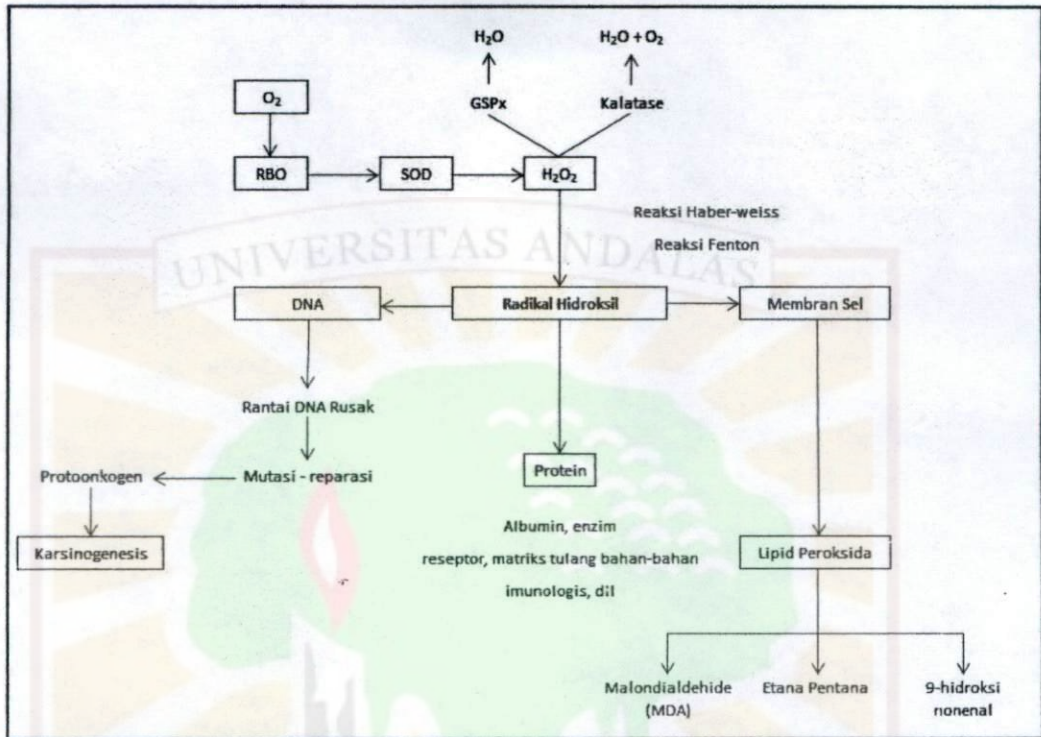
Pada prose peroksidasi lipid, selain Malondialdehid terbentuk juga radikal bebas yang lain, tetapi radikal bebas tersebut mempunyai waktu paruh yang pendek sehingga sulit diperiksa dalam laboratorium (Cherubini *et al.*, 2005).

Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan dengan *Test thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS) yang berdasar pemeriksaan reaksi spektrofotometrik (Konig dan Berg, 2002).

2.9.3 Pembentukan Malondialdehid dari Radikal Bebas

Pada dasarnya oksidasi asam lemak merupakan reaksi rantai peroksidasi lipid, yang dirangsang radikal bebas. Akibat akhir dari rantai ini adalah terputusnya rantai karbon asam lemak yang menghasilkan berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehyd seperti Malondialdehid, 9-hidroksi-nonenal serta senyawa hidro karbon seperti etana

(C₂H₆) dan pentane (C₅H₁₂), sebagaimana terlihat pada gambar reaksi haber-weiss, fenton pada tahap pembentukan Malondialdehid (Arsyat, 2000)



2.2 Reaksi Haber-Weiss Fenton (Arsyat, 2000)

2.9.4 Pemeriksaan Kadar MDA

Metode yang sering digunakan untuk mengukur kadar MDA adalah berdasarkan pada reaksi terhadap thiobarbituric acid (TBA). Thiobarbituric acid reaktif substance (TBARS) Assay merupakan metode kalori metric yang banyak digunakan untuk mendeteksi peroksidasi lipid pada substansi biologis. Keuntungan dari pemeriksaan *Thiobarbituric acid* ini, adalah mudah digunakan (citawattana, 2005). Prinsip dari pemeriksaan *Thiobarbituric acid* ini adalah pengaruh asam dan panas akan mempercepat dekomposisi peroksidalipid membentuk Malondialdehid. Malondialdehid yang diproduksi selama peroksidasi dapat bereaksi dengan Thiobarbituric acid menghasilkan produk berwarna kromogen merah muda. Senyawa berwarna tersebut dapat diukur konsentrasinya

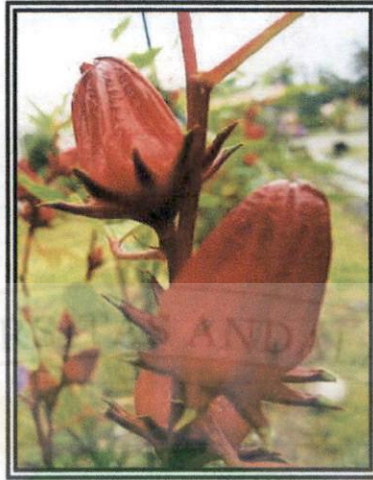
berdasarkan absorbansi warna yang terbentuk, dengan membandingkannya pada absorbansi warna larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 529 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidalipid yang terjadi (Jettawatana, 2005)

2.10 Enzim Katalase

Enzim katalase di produksi sel untuk mengkatalis H_2O_2 menjadi oksigen dan air, sehingga bersifat nontoksik (bothanKM,2006). Senyawa H_2O_2 dihasilkan oleh aktifitas enzim oksidase, daya rusak H_2O_2 bukan hanya karena senyawa tersebut merupakan oksidan yang kuat tetapi juga karena H_2O_2 dapat menghasilkan radikal hidroksil diantara senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling berbahaya karena reaktifitasnya sangat tinggi (Suryohudoyo, 2007).

Aktifitas katalase sebagai antioksidan endogen akan meningkat apabila radikal bebas meningkat dan bila jumlah radikal bebas tidak seimbang dengan kemampuan antioksidan untuk meredamnya aktifitasnya akan berkurang.

2.11 Rosella (*Hibiscus Sabdarifa* L)



Gambar 2.3: Bunga Rosella

Sumber : <http://cyberwap.net/blog/view.php?id=110221>

1) Taksonomi

Klasifikasi tanaman rosella adalah (Mardiah *et al.*, 2009):

Regnum	: <i>Plantae</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Dilleniidae</i>
Ordo	: <i>Malvales</i>
Familia	: <i>Malvaceae</i>
Genus	: <i>Hibiscus</i> L.
Spesies	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.

2) Nama lain

Tanaman rosella dapat tumbuh baik di daerah yang beriklim tropis dan yang beriklim subtropics. Tanaman ini mempunyai habitat asli yang sangat luas, terbentang dari India hingga Malaysia, namun saat

ini tanaman rosella telah tersebar luar di daerah tropis dan subtropics di seluruh dunia. Karena itu rosella mempunyai nama umu yang berbeda-beda di berbagai daerah (Mardiah *et al.*, 2009).

Tumbuhan *Hibiscus sabdariffa* Linn ini dalam bahasa Indonesia disebut rosella. *Hibiscus sabdariffa* Linn di daerah sunda dikenal dengan nama gamel walanda, di daerah Ternate dengan nama kasturi rortha, di daerah Jawa Tengah dengan nama mrambos hijau, di daerah Padang dengan nama asam jarot, di daerah sumatera selatan dengan nama kesew jawe, dan di daerah Muara Enim dengan nama asam rejang (MAryani dan Kristiana, 2008; Mardiah *et al.*, 2009)

Di Malaysia, rosella dikenal sebagai asam susur, asam paya, atau asam kumbang. Di Cina dikenal *lou shen kui*, *lou shen hua*. Di Thailand dikenal sebagai *kachieb priew*. Di Belanda dikenal *Zuring*, dan di Sinegal dikenal sebagai *bisap*. Di Inggris dikenal dengan *roselle*, *rozelle*, *sorrel*, *sour-sour*, *queensland jelly plant*, *jelly okra*, *lemon bush* dan *florida cranberry*. Di Afrika Utara dikenal karkade atau *carcade*. Nama *carcade* inilah yang dipakai sebagai nama dagang rosella, baik dalam dunia pengobatan maupun sebagai bahan makanan di benua Eropa (Mardiah *et al.*, 2009).

Pada penelitian ini, bunga rosella di ambil dari pusat pengembangan budidaya rosella di daerah Solok, pada Departemen Pertanian dan Perkebunan.

3) Karakteristik dan Morfologi

Tanaman rosella merupakan herba tahunan yang bergetah. Tinggi tanaman ini dapat mencapai ketinggian 0.5 – 3 meter, serta mengeluarkan bunga hamper sepanjang tahun. Batangnya berbentuk bulat, tegak, berkayu dan berwarna merah. Daunnya berupa daun tunggal, berbentuk bulat telur, pertulangan daunnya menjari, berujung tumpul, tepi berigi dan dengan pangkal berlekuk. Panjang daunnya 6-15 cm, dan lebar daun 5-8 cm. Tangkai daun bulat berwarna hijau dengan panjang 4-7 cm (Mardiah *et al.*, 2009).

Bunga tanaman rosella yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal, artinya pada setiap tangkai tanaman rosella hanya terdapat 1 bunga. Bunga dari tanaman rosella ini mempunyai 8-11 helai kelopak bunga yang bernulu dengan panjang sekitar 1 cm, dengan pangkal yang saling berlekatan, dan berwarna merah.

Kelopak bunga ini sering dianggap bunga oleh masyarakat, bagian inilah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman (Mariani dan Kristiana, 2008). Mahkota bunga berbentuk corong terdiri dari 5 helaian panjangnya sekitar 3-5 cm. Tangkai sari yang merupakan tempat melekatnya kumpulan benang berukuran pendek dan tebal, panjang sekitar 5 cm dan lebar sekitar 5 mm. Putik berbentuk tabung berwarna kuning dan merah (Mardiah *et al.*, 2009).

Buah berbentuk kotak, kerucut, berambut, terbagi menjadi 5 ruang, berwarna merah. Bentuk biji menyerupai ginjal, berbulu dengan

panjang 5 mm dan lebar 4 mm. Saat masih muda biji berwarna putih dan setelah tua berubah menjadi abu-abu (Mardiah *et al.*, 2000).

4) Kandungan Senyawa Kimia

Bahan aktif dari kelopak bunga rosella adalah grossypeptin, antosianin, glusidehibiscin dan flavonoid. Menurut DEPKES RI kelopak bunga rosella mengandung vitamin C, vitamin D, vitamin B1, vitamin B2, niacin, riboplavin, betakaroten, zat besi, asam aminol, polisakarida, omega 3, kalsium. Rasa asam dari kelopak bunga rosella disebabkan kandungan vitamin C, Asam sitrat dan asam glikolik (Mariani dan Kristiana 2008).

Hasil studi kimia pada kelopak bunga kering H.sabdariffa L., ditemukan aluminium, kromium, tembaga, besi (arellano *et al.*, 2004), polyphenol (liu *et al.*, 2002; lin *et al.*, 2003), antocyanidin (laze *et al.*, 2003; ojekoh *et al.*, 2006), asam polisakarida heterogen dan komponen phenol termasuk Gossypetine -3-glycoside, flavonoid (Amin dan Hamza 2005).

5) Mekanisme Kerja Antioksidan yang Terkandung pada rosella

Rosella yang memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi direkomendasikan sebagai bahan untuk dikonsumsi. Semakin pekat warna merah pada kelopak rosella, rasanya akan semakin asam dan kandungan antioksidan (antosianin) semakin tinggi. Antosianin disini berperan menjaga kerusakan sel akibat penyerapan sinar ultraviolet berlebih. Ia melindungi sel-sel tubuh dari perubahan akibat radikal bebas. Tetapi hati-hati sebab kadar antioksidan tersebut menjadi berkurang bila mengalami

proses pemanasan dan pengeringan (misalnya dengan oven). Antioksidan adalah molekul yang berkemampuan memperlambat atau pun mencegah oksidasi molekul lain. Kandungan antioksidan yang rendah dalam tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif dan merusak sel-sel tubuh. Oleh karena itu efek pengobatan dengan mengkonsumsi rosella ini terhadap berbagai penyakit sebenarnya merupakan efek dari antioksidannya (Anonim, 2010).

6) Manfaat Rosella

Rosella dilaporkan memiliki antiseptic, aphrodisiac, astringent, diuretic, emolien, sedative dan nontonic (Okasya et al., 2008).

Karakteristik visiokimia kelopak bunga rosella memiliki kadar vitamin C yang tinggi dengan kandungan gula yang rendah, juga mengandung asam suksinat dan asam oksalat yang merupakan 2 asam organik yang dominan. Rosella memiliki kandungan asam askorbat yang lebih tinggi daripada jeruk dan mangga. Kelopak bunga rosella mengandung vitamin A dan 18 jenis asam amino yang diperlukan tubuh. Salah satunya adalah arginin yang berperan dalam proses peremajaan sel tubuh. Disamping itu, rosella juga mengandung protein, kalsium, dan unsure-unsur lain yang berguna dalam tubuh.

Asam amino yang terdapat dalam tanaman ini antara lain arginine, cystine, hystidine, isoleucine, lysine, methionine, phenylalanine, treonin, tritopan, trisosine, valine, aspartic acid, glutamik acid, alanin, glisine, proline, dan serine (Okasa et al., 2008). Kandungan teaplavin dan katecins membantu mengontrol kadar kolesterol dalam darah,

pembuangan kolesterol LDL dari hati. Sedangkan vitamin C dapat berfungsi untuk menetralkan lemak dalam tubuh, sehingga cukup bermanfaat untuk bodi slimming, bodi firming. Selain itu, kandungan vitamin C yang tinggi secara farmakologis berfungsi dalam membantu menyerap semua vitamin dan mineral. Vitamin dan mineral membantu metabolisme tubuh. Vitamin A dan vitamin C mempunyai fungsi menjaga dan meningkatkan kesehatan tubuh serta mencegah penuaan dini dan munculnya katarak. Vitamin C sebagai salah satu antioksidan eksternal. Kandungan kalsium yang tinggi sangat membantu pertumbuhan serta kekuatan tulang dan gigi. Vitamin A, Vitamin C, dan kalsium berguna untuk kesehatan mata, kulit dan tulang sedangkan serat untuk memperbaiki sistem pencernaan (Arrellano *et al.*, 2004).

Plavanoit dalam kelopak bermanfaat untuk mencegah kanker, terutama yang dikarenakan radikal bebas, seperti kanker lambung dan leukemia. Selain itu plavanoit juga mempunyai efek protektif terhadap penyakit-penyakit kardiovaskuler termasuk hipertensi (Kusmardiana *et al.*, 2007). Senyawa plavanoit dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme, Karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein dengan ikatan hydrogen. Polivenol atau venol bekerja sebagai anti bakteri dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran plasma (Arrillano *et al.*, 2004).

7) Toksisitas

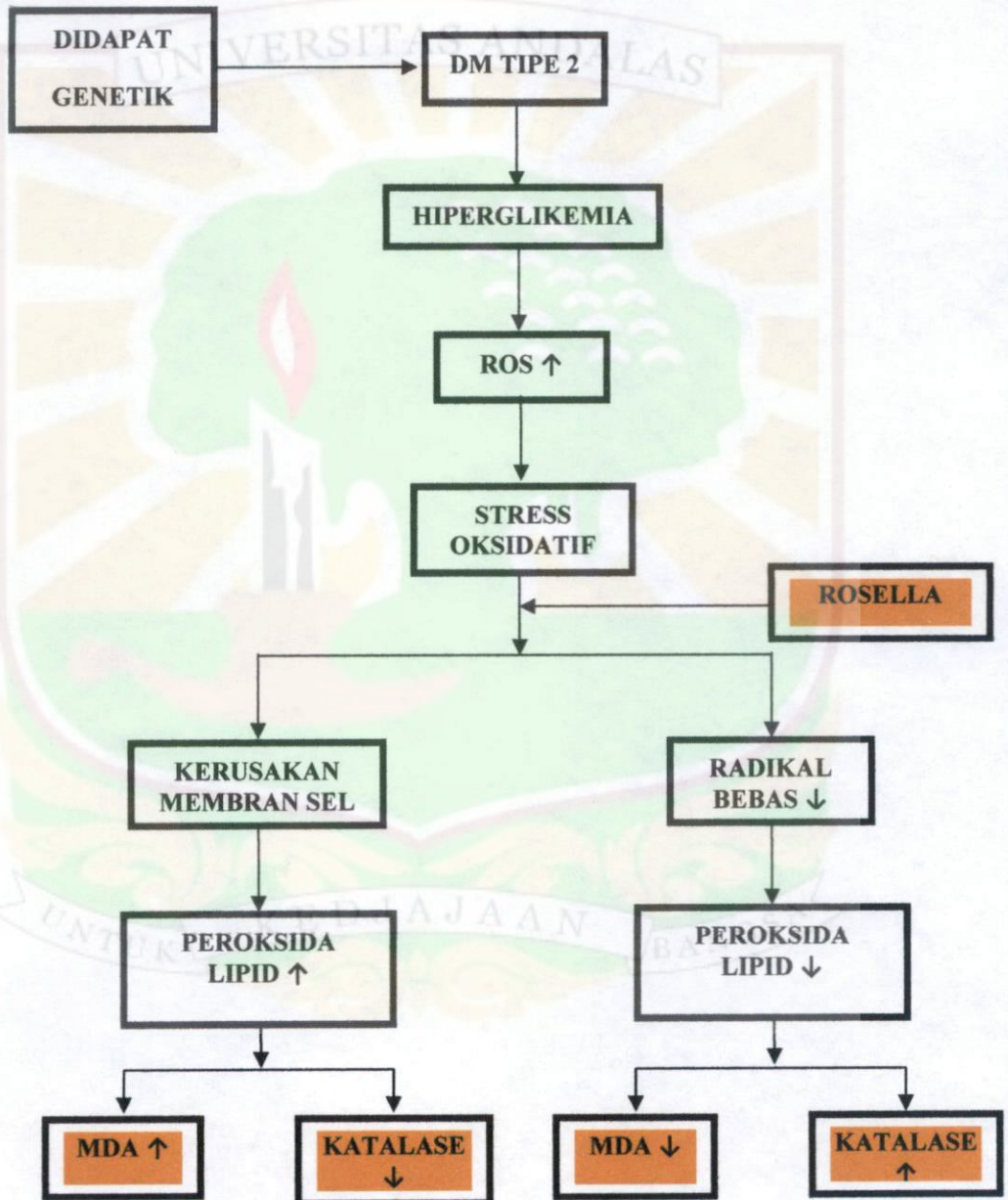
Toksisitas ekstrak kelopak bunga rosella sangat rendah, LD 50 dari ekstrak kelopak bunga rosella tersebut ditemukan di atas 5000 mg/kg, Penelitian dilakukan pada tikus (Ali *et al.*, 2005).



BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka konseptual



KETERANGAN :



VARIABEL YANG DITELITI

Kerangka berfikir pada penelitian ini didasarkan pada teori yang menyatakan bahwa, pengobatan dan pencegahan Diabetes Melitus sudah difokuskan pada mekanisme oksidatif, seperti halnya pencegahan dengan menggunakan antioksidan untuk mengantisipasi efek radikal bebas.

Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan salah satu radikal bebas yang menjadi sumber toksik berbagai macam penyakit karena dapat bereaksi menimbulkan jaringan. Katalase sebagai antioksidan endogen memiliki peran utama dalam mengontrol H_2O_2 dengan mengkatalis H_2O_2 menjadi air dan oksigen sehingga bersifat non toksik (Chrisstianto, 2000 : Bothan K M, Mayes PA, 2006). Aktivitas enzim katalase meningkat dalam merespon stress oksidatif sehingga dapat melindungi sel-sel β pankreas.

Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal ini merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stress oksidatif.

Meningkatnya kadar radikal bebas dapat diketahui dengan mengukur kadar MDA dan juga MDA merupakan salah satu senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas oksidan (radikal bebas) dalam sel, sedangkan glutathione dan katalase untuk mengetahui aktivitas anti oksidan dalam sel.

Untuk mencegah terjadinya efek buruk dari radikal bebas diperlukan anti oksidan. Anti oksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi. Cara kerja dari senyawa oksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas.

Rosela merupakan salah satu tanaman yang dijadikan sebagai sumber antioksidan. Rosela mengandung bermacam-macam antioksidan, di antaranya vitamin C, vitamin E, betakaroten, polifenol dan flavanoid. Oleh sebab itu pada penelitian ini digunakan ekstrak rosella sebagai anti oksidan untuk mengurangi radikal bebas pada penyakit diabetes melitus dengan menggunakan MDA dan kadar katalase sebagai parameter untuk mengetahui kadar antioksidan dan oksidan dalam tubuh pada saat konsumsi antioksidan.

3.2. Hipotesis

- 3.2.1. Ada pengaruh pemberian ekstrak bunga ekstrak terhadap kadar MDA dan aktivitas katalase pada tikus hiperglikemia yang di induksi aloxan.
- 3.2.2. Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak bunga ekstrak terhadap kadar MDA dan aktivitas katalase pada tikus hiperglikemia yang di induksi aloxan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*, yang menggunakan hewan coba sebagai subjek penelitian.

4.2 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September – Oktober 2012. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, Laboratorium Farmakologi Dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

4.3 Populasi Dan Sampel

4.3.1 Populasi

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Banyaknya pengamatan atau anggota suatu populasi disebut ukuran populasi, sedangkan suatu nilai yang menggambarkan ciri/karakteristik populasi disebut parameter (Sugiarto,dkk,2001). Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Ratus Norvegicus*) Jantan Strain Wistar, yang diperoleh dari unit pengembangan hewan penelitian (UPHP) Surabaya.

4.3.2 Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang ingin diteliti, yang ciri-ciri dan keberadaannya diharapkan mampu mewakili atau menggambarkan ciri-ciri dan keberadaan populasi yang sebenarnya. Pengambilan sampel adalah suatu proses yang dilakukan untuk memilih dan mengambil sampel secara benar dari suatu populasi, sehingga dapat digunakan sebagai wakil yang dapat mewakili populasi tersebut (Sugiarto,dkk,2001). Sampel dari penelitian ini adalah tikus putih yang dipilih secara acak, berumur 2 – 3 bulan dengan berat badan sekitar 200 – 300 gram.

Kriteria Inklusi dan eksklusi pada penelitian ini :

a. Kriteria Inklusi

1. Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jenis Strain Wistar.
2. Tikus berusia antara 2 – 3 bulan.
3. Berat badan tikus antara 200 – 300 gram.
4. Hidup dan sehat.

b. Kriteria Eksklusi

1. Selain Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jenis Strain Wistar.
2. Tikus berusia kurang dari 2 bulan atau lebih dari 3 bulan.
3. Berat badan tikus kurang dari 200 gram atau lebih dari 300 gram.
4. Tikus dalam keadaan mati atau tidak sehat.

4.3.3 Besar Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara *random sampling*.

Jumlah kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada penelitian ini adalah sebanyak 5 kelompok yang terdiri dari :

1. 1 kelompok kontrol negatif.
2. 1 kelompok kontrol positif.
3. 3 kelompok perlakuan dengan dosis berbeda.

Penentuan besar sampel dilakukan dengan menggunakan rumus Federer (Maryanto dan Fatimah, 2004). Rumus Federer :

$$(n-1) \times (t-1) > 15$$

Keterangan:

n = Besar sampel tiap kelompok

t = Banyaknya kelompok

$$(n-1) \times (5-1) > 15$$

$$(n-1) \times 4 > 15$$

$$n - 1 > 3,75$$

$$n > 4,75$$

Dengan demikian, setiap kelompok terdapat minimal 5 ekor tikus putih.

Peneliti memilih untuk menggunakan 6 ekor tikus putih tiap kelompok dengan jumlah kelompok sebanyak 5 kelompok sehingga jumlah seluruh subjek penelitian sebanyak 30 ekor.

4.4 Variabel Penelitian Dan Defenisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

4.4.1.1 Variabel Independen

Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdarifa*)

4.4.1.2 Variabel Dependen

Kadar Malondialdehid (MDA)

Kadar Katalase

4.4.2 Definisi Operasional

4.4.2.1 Aloksan

Aloxan (2,4,5,6 Tetra Oksipirimidin 5,6 dioksiurasil) adalah bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Aloxan digunakan karena cepat menimbulkan kondisi diabetik ekperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan, dalam waktu 2 sampai 3 hari, secara selektif merusak sel β pankreas yang mensekresi hormon insulin pankreas sehingga tidak mempunyai pengaruh pada jaringan percobaan lainnya. (Suharmiati,2003)

Dosis aloksan pada tikus putih untuk menimbulkan keadaan diabetik adalah 120-150 mg/kg BB secara subkutan (Szkuldelski, 2001). Pada penelitian ini penulis memberikan induksi aloksan 150 mg/kgBB melalui intraperitonal, dari beberapa penelitian yang telah dilakukan dosis aloksan 150 mg/kgBB secara intraperitonal sudah menghasilkan kondisi diabetes (hiperglikemik) pada binatang percobaan.

4.4.2.2 Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L)

Ekstrak bunga rosella adalah hasil dari ekstraksi dan penyaringan bunga rosella kering jenis *hybiscussabdariffa* L yang diolah melalui tahapan tertentu dengan metode maserasi dengan cairan etanol 96%. Ekstrak bunga rosella ini disuspensikan dalam Na CMC1% kemudian diberikan kepada tikus melalui sonde.

Volume cairan maksimal yang dapat diberikan per oral pada tikus adalah 5 ml/ 100 g (Ngatidjan, 2006). Disarankan takaran dosis tidak sampai melebihi setengah kali volume maksimalnya (Imono dan Nurlaila, 1989). Takaran konversi dosis untuk manusia dengan berat badan (BB) 70 kg pada tikus dengan BB 200 g adalah 0,018. Rata-rata orang Indonesia beratnya 50 kg (Imono, 1986). Dosis kelopak rosela yang digunakan adalah dosis yang biasa dipakai di masyarakat, yaitu 3-4 kuntum bunga rosela, jika dikonversi menjadi ± 10 gram. Maka dosis untuk tikus, yaitu: $(10 \times 1000 \text{ mg} \times 0,018 \times 50/70) / 200 \text{ g BB} = 128,6 \text{ mg/ 200 g BB}$, ekuivalen dengan 130 mg/ 200 g BB / hari.

Dalam percobaan dipakai dosis ekstrak kelopak bunga rosela yang bertingkat:

- a. Kelompok uji I: Dosis rendah/ dosis 1 = $0,5 \times 130 \text{ mg/ 200 g BB} = 65 \text{ mg/ 200 g BB/ hari}$
- b. Kelompok uji II: Dosis sedang/ dosis 2 = $1 \times 130 \text{ mg/ 200 g BB} = 130 \text{ mg/ 200 g BB/ hari}$
- c. Kelompok uji III: Dosis tinggi/ dosis 3 = $1,5 \times 130 \text{ mg/ 200 g BB} = 195 \text{ mg/ 200 g BB/ hari}$

Berat serbuk kelopak bunga rosela 400 g diekstrak dengan 300 ml etanol 96% menghasilkan ekstrak sebanyak 165,180 g, sehingga 1g serbuk kelopak bunga rosela setara dengan 412,95 mg ekstrak kelopak bunga rosela.

- a. Dosis 1: 65 mg serbuk/ 200 g BB/ 2 ml setara dengan 26,84 mg ekstrak kelopak bunga rosela.
- b. Dosis 2: 130 mg serbuk/ 200 g BB/ 2 ml setara dengan 53,68 mg ekstrak kelopak bunga rosela.
- c. Dosis 3: 195 mg serbuk/ 200 g BB/ 2 ml setara dengan 80,52 mg ekstrak kelopak bunga rosela. (Rudi Setiawan, 2010)

Alat ukur : Timbangan elektrik dengan ketelitian 0,01 gram merek

Ohaus made in Amerika.

Hasil Ukur : kadar ekstrak hybiscus sabdariffa L dalam mg/kgBB.

Skala ukur : Skala rasio yang dikonversi ke skala ordinal.

4.4.2.3 Kadar MDA darah

MDA adalah suatu senyawa yang dihasilkan dari peroksidasi lipid yang terbentuk akibat degradasi radikal bebas OH^+ terhadap asam lemak tidak jenuh. (Arsyad, 2000). Nilai normal MDA plasma adalah kurang dari 4 nmol/ml (Yagi, K, 1982).

4.4.2.4 Kadar Katalase

Aktifitas katalase pada pasien DM tipe2 lebih tinggi dibandingkan nonDM, karena pada DM tipe2 yang tidak terkontrol terjadi hyperglikimia yang menyebabkan produksi radikal bebas meningkat, sehingga memicu terjadinya

stres oksidatif (ROS). Salah satu radikal bebas yang dihasilkan adalah hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal ini paling reaktif dan paling merusak. Katalase berperan sebagai enzim peroksidasi khusus dalam reaksi dekomposisi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air (H_2O dan O_2), sehingga bersifat nontoksik (Kristiyanto, 2000; bothan KM, mayyes PA 2006). Peningkatan ROS pada DM tipe2, akan meningkatkan aktifitas katalase dalam merespon stres oksidatif untuk melindungi sel β pankreas sehingga aktifitas katalase pada diabetes DM tipe2 lebih tinggi daripada nonDM.

Metode Sinha menggunakan zat warna sebagai indikator. Ion bikromat dari $K_2Cr_2O_7$ dalam sasana asam asetat glasial direduksi oleh H_2O_2 menjadi kromat yang berwarna hijau kekuningan pada panjang gelombang 570 nm. Satu unit aktifitas katalase dinyatakan sebagai banyaknya H_2O_2 dalam mol. (Sri Yadiad Calid, 2003).

4.5 Alat Dan Bahan

4.5.1 Alat

1. Timbangan (Ohaus) dengan kapasitas 2610 gram dengan skala terkecil 0,1 untuk menimbang berat badan tikus.
2. Timbangan elektrik dengan ketelitian 0,01 gram untuk menimbang ekstrak.
3. Kandang tikus (ukuran 50 x 30 cm) lengkap dengan tempat makan dan minum sebanyak 5 buah sebagai tempat pemeliharaan tikus.
4. Mikrohematokrit untuk mengambil darah.
5. Rak dan tabung reaksi untuk menampung sampel darah.

6. Mikropipet (sacorex dengan volume 10 μ l) untuk mengambil zat dengan milimeter terkecil.
7. Sentrifuge (Scientific model 3621 dengan kecepatan maksimum 4000 rpm) untuk memisahkan serum darah tikus.
8. Spektrofotometer untuk memeriksa kadar MDA darah tikus putih.
9. Vortex
10. Water bath
11. Seperangkat alat destilasi vakum
12. Rotary evaporator sebagai alat ekstraksi *Eucheuma sp.*
13. Blender
14. Glukose meter (gluco-DR)
15. Kamera dan sarung tangan

4.5.2 Bahan

1. Tikus putih jantan
2. Aloksan
3. Bunga rosella
4. Etanol 96% sebagai bahan dalam ekstraksi bunga rosella.
5. Pakan standar (pellet) sebagai pakan sehari-hari sebanyak 20 gram/ekor /hari.
6. Sorum sampel
7. Bahan untuk pemeriksaan MDA

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Alat dan Bahan

4.6.1.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus dipelihara dalam kandang yang ditutup dengan anyaman kawat, kandang ditempatkan didalam ruangan dengan pengaturan cahaya dan ventilasi yang cukup serta tidak terkena matahari secara langsung. Kandang tempat makan dan minum harus dibersihkan secara rutin perminggunya minimal 3 kali dalam seminggu. Sebelum perlakuan, tikus dikarantina selama 2 minggu, dengan tujuan mengkondisikan hewan dengan suasana labor untuk menghilangkan stres akibat perjalanan. Suhu dan kelembaban ruangan diperhatikan, dipertahankan suhu kamar dan kelembaban 40-60%. Makan dan minum diberikan secara ad libitum. Makan yang diberikan berupa pellet yang dicampur dengan aquades. Jumlah konsumsi pakan perhari rata-rata 5gram/100gramBB, kebutuhan air 8-11 ml/100gramBB (Kusumawati, 2004).

4.6.1.2 Perencanaan Dosis

Penelitian ini menggunakan aloksan dengan dosis 150 ml/kgBB yang diberikan secara intraperitoneal. (Szkudelski, 2001). Dalam percobaan dipakai dosis ekstrak bunga rosella yang bertingkat :

- a. Kelompok uji I: Dosis rendah/ dosis 1 = $0,5 \times 130 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} = 65 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} / \text{hari}$
- b. Kelompok uji II: Dosis sedang/ dosis 2 = $1 \times 130 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} = 130 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} / \text{hari}$

- c. Kelompok uji III: Dosis tinggi/ dosis 3 = $1,5 \times 130 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} = 195 \text{ mg} / 200 \text{ g BB} / \text{hari}$

4.6.1.3 Pembuatan Ekstrak Rosella

Kelopak Rosella diiris tipis-tipis, dihaluskan dengan blender. Setelah itu dimaserasi dengan etanol 96 % sampai semuanya terendam, diaduk dan dibiarkan selama ± 1 minggu dan kemudian disaring dan dilakukan sebanyak 3 kali. Semua substrat disatukan, kemudian didesilasi vakum dan hasil desilat dikentalkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak yang kental (Nasir, 1998).

4.6.2 Perlakuan Pada Hewan Coba

Perlakuan diberikan kepada tikus yang dijadikan sampel sebanyak 25 ekor, dengan 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdapat 5 ekor tikus. 25 kelompok tikus tersebut dibagi menjadi :

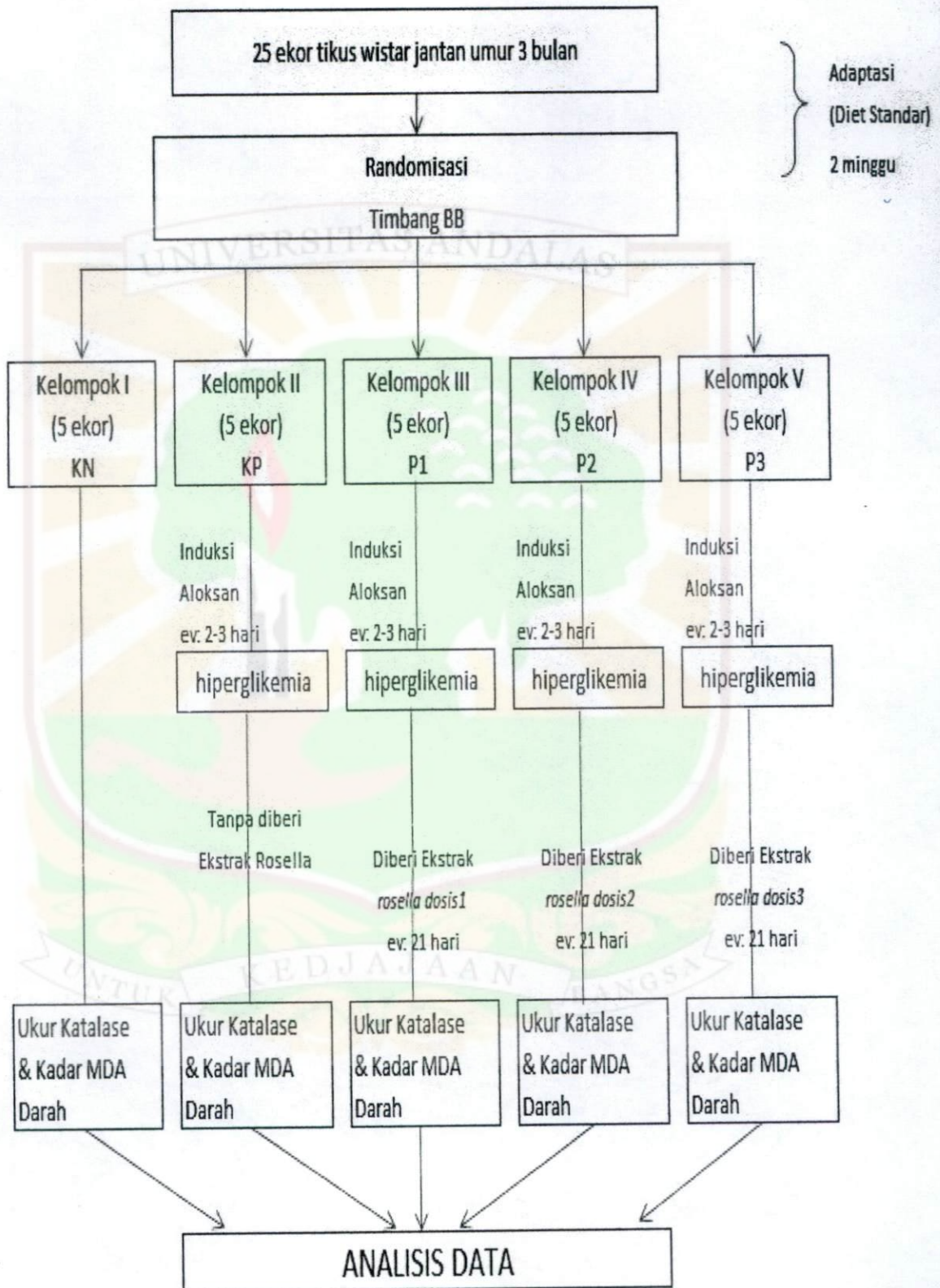
- a. Kelompok I (Kontrol Negatif) tikus tidak diberi ekstrak rosella ataupun juga tidak diinduksi aloxan, dan tikus hanya diberi makan dan minum saja. Pemeriksaan kadar MDA dan aktifitas katalase diukur pada hari terakhir penelitian.
- b. Kelompom II (Kontrol Positif) pada kelompok ini diinduksi aloxan dengan dosis 150 mg/kg dan tidak diberi ekstrak bunga rosella. Pemeriksaan kadar MDA dan aktifitas katalase diukur pada hari terakhir penelitian.
- d. Kelompom III (Dosis I) pada kelompok ini diinduksi aloxan dengan dosis 150 mg/kg dan diberi ekstrak bunga rosella dengan dosis 65 mg/ 200 g BB/ hari. Pemeriksaan kadar MDA dan aktifitas katalase diukur pada hari terakhir penelitian.

- c. Kelompok IV (Dosis II) pada kelompok ini diinduksi aloxan dengan dosis 150 mg/kg dan diberi ekstrak bunga rosella dengan dosis 130 mg/ 200 g BB/ hari. Pemeriksaan kadar MDA dan aktifitas katalase diukur pada hari terakhir penelitian.
- d. Kelompok IV (Dosis II) pada kelompok ini diinduksi aloxan dengan dosis 150 mg/kg dan diberi ekstrak bunga rosella dengan dosis 195 mg/ 200 g BB/ hari. Pemeriksaan kadar MDA dan aktifitas katalase diukur pada hari terakhir penelitian.

Pada kelompok II, III, IV dan V tikus dihiperglikemikan dengan cara menginduksi aloxan. Kadar gula darah diukur sampai dinyatakan hiperglikemi yaitu kadar gula darah ≥ 200 mg/dl. Pada kelompok III, IV dan V pemberian ekstrak rosella dilakukan setelah kadar glukosa darah sudah melebihi 200 mg/dl atau kondisi tikus sudah hiperglikemi.

Pemberian ekstrak rosella diberikan secara orag dengan cara sonde atau jarum suntik yang sudah tumpul. Pemberian dilakukan pada jam 09.00 – 10.00 WIB. (Rosmadeli, 2010). Lama pemberian ekstrak selama 21 hari, mengingat beberapa penelitian terdahulu yang melakukan secara bervariasi, mulai dari 7 hari, 14, 21, dan 28 hari, maka peneliti memilih selama 21 hari karna angka yang didapat pada perlakuan selama 21 hari lebih signifikan dari 7 dan 14 hari. Pada hari terakhir penelitian, darah diambil dari aorta dengan proses pembedahan masing-masing tikus, selanjutnya dilakukan pengukuran MDA dan Aktifitas katalase.

4.7 Kerangka Operasional Penelitian



4.8 Pemeriksaan Kadar Malondialdehid (MDA) Darah

Alat dan Bahan :

- Darah \pm 3 ml
- TCA 5 %
- Na Thio barbituric Acid
- Standard MDA

Cara Kerja :

- Darah di centrifuge, kemudian pisahkan serumnya.
- Siapkan tabung sesuai prosedur berikut :

REAGEN	BLANKO	STANDARD	SAMPEL (1,2,DST)
Aquades	0,5 ml	-	-
Standard	-	0,5 ml	-
Serum Sampel	-	-	0,5 ml
Tambahkan masing2 nya 2,5 ml TCA 5 %			
Campur dengan menggunakan vortex mixer			
Centrifuge selama 10 menit, dengan kecepatan 2000 RPM			
Pipet masing-masing 1,5 ml filtratnya, masukkan ke dalam tabung sesuai dengan labelnya.			
Tambahkan masing-masing 1,5 ml Na Thio barbituric Acid			
Campur dengan menggunakan vortec mixer			
Panaskan dalam Water Bath mendidih selama 30 menit			

Dinginkan
Baca Absorban dengan Spektrofotometer pada λ 550 nm

$$\bullet \text{ Kadar MDA Sampel} = \frac{\text{Absorban Sampel} \times \text{C. Standard}}{\text{Absorban Standard}}$$

(Protap Pemeriksaan Kadar MDA, lab Biokimia UNAND)

4.9 Pemeriksaan Aktivitas Katalase

Alat dan Bahan :

- Spektrofotometer UV- 200RS atau V-200RS + Cuvet
- Water Bath
- Sentrifuge
- H₂O
- Stopwatch

Reagen :

- Campurkan 50 ml Potasium Dichromate 5 % dengan 150 ml Asetat glacial
- Persiapkan 0,2 M H₂O₂
- Persiapkan 250 ml Buffer phospat pH 7.0 dengan konsentrasi 0.01 molar

Kurva Standard :

- Isilah 6 tabung dengan H_2O_2 dengan jumlah yang berbeda-beda (10 sampai 160 micromol). Pada setiap tabung ditambahkan 2 ml dicromat/asetat glacial, bila terbentuk presipitat biru maka lakukan hal berikut :

- Panaskan tiap tabung selama 10 menit di dalam air mendidih pada water bath untuk mendekomposisi presipitat biru. Hingga muncul warna hijau dari chromic asetat.
- Dinginkan pada suhu kamar, dan tambahkan pada tiap tabung H_2O hingga volumenya mencapai 3ml.
- Pindahkan 3ml larutan tersebut kedalam cuvette dan ukur absorbannya pada panjang gelombang 570 nm. Ulangi pada lima tabung lainnya.
- Gunakan data tersebut untuk membuat grafik dengan absorban pada sumbu y dan konsentrasi H_2O_2 pada sumbu X.

Pengujian :

- Masukkan 800 mikromol (0.0008 mol) H_2O_2 kedalam tabung. Ini sama dengan 4 ml larutan H_2O_2 0.2 M.
- Tambahkan 5 ml buffer phospat.
- Tambahkan 1 ml serum dan homogenkan dengan perlahan.
- Ambil 1 ml dari hasil reaksi ini, dan tambahkan ke dalam 2ml dicromat/asetat glacial. Dengan tabung yang berbeda ulangi prosedur ini dengan interval 60 detik.

- Panaskan tabung selama 10 menit pada air mendidih untuk menghilangkan presipitat biru dan menghasilkan larutan hijau.
- Ukur absorban pada panjang gelombang 570 nm.
- Gunakan kurva standard untuk menentukan berapa banyak H₂O₂ yang tersisa saat reaksi dihentikan oleh asam asetat.
- Tentukan jumlah protein untuk dihubungkan dengan aktivitas enzim.
- Setelah didapatkan jumlah H₂O₂ (mikromol) yang tersisa, maka untuk mendapatkan berapa banyak H₂O₂ yang telah dihancurkan oleh katalase adalah H₂O₂ yang direaksikan (800 mikromol) dikurangi H₂O₂ yang tersisa.
- $$\text{Aktivitas katalase (unit/mg)} = \frac{\text{H}_2\text{O}_2 \text{ dihancurkan oleh katalase / menit}}{\text{Protein serum (mg/ml)}}$$

(Protap Pemeriksaan Aktivitas Enzim Katalase, lab Biokimia UNAND)

4.10 Pengolahan Dan Analisa Data

Data yang diperoleh diolah dan dianalisis dengan anova dengan derajat kepercayaan 95 %. Jika terdapat perbedaan bermakna antara ke tiga kelompok perlakuan ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan Uji Post Hoc Tes.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini digunakan sebanyak 25 ekor tikus jantan galur wistar sebagai sampel, yang terbagi menjadi 5 kelompok masing-masing berjumlah 5 ekor, yaitu 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, 1 kelompok perlakuan dosis ekstrak rosella I, 1 kelompok perlakuan dosis ekstrak rosella II dan 1 kelompok perlakuan dosis ekstrak rosella III. Adapun hasil penelitian yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut :

5.1 Kadar MDA

Tabel 5.1 Perbedaan Rerata Kadar MDA Darah berdasarkan Kelompok Penelitian

Kelompok	Rata – Rata (nmol/ml)	p
KN	$8,49 \pm 2,38$	0.014
KP	$12,81 \pm 1,57$	
P1	$10,28 \pm 1,75$	
P2	$7,75 \pm 1,30$	
P3	$8,04 \pm 0,49$	

Berdasarkan tabel 5.1 diperoleh rata-rata kelompok KN adalah $8,49 \pm 2,38$ nmol/ml, kelompok KP adalah $12,81 \pm 1,57$ nmol/ml, kelompok P1 adalah $10,28 \pm 1,75$ nmol/ml, kelompok P2 adalah $7,75 \pm 1,30$ nmol/ml dan pada kelompok P3 adalah $8,04 \pm 0,49$ nmol/ml. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA antar kelompok ($p < 0,05$).

Untuk melihat perbedaan antara kelompok dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test Multiple Comparisons*, jenis *Bonferroni* hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji *Post Hoc Test* Terhadap Kadar MDA Antar Kelompok Penelitian

Kelompok	KP	P1	P2	P3
KP	-	0,530	1,000	0,481
P1	0,530	-	1,000	0,012*
P2	1,000	1,000	-	0.118
P3	0,481	0,012*	0,118	-

(*terdapat perbedaan bermakna)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test* pada tabel 5.2, kelompok yang berhubungan secara signifikan adalah kadar MDA kelompok P1 dengan kelompok P3 ($p=0,012$). Sedangkan kelompok yang lain tidak memperlihatkan hubungan yang signifikan ($p > 0.05$).

5.2 Aktivitas Katalase

Tabel 5.3 Perbedaan Rerata Aktivitas Katalase Berdasarkan Kelompok Penelitian

Kelompok	Rata – Rata (unit/mg)	p
KN	11,4 ± 1,41	0,036
KP	9,3 ± 0,75	
P1	9,84 ± 0,22	
P2	10,56 ± 0,37	
P3	9,85 ± 0,79	

Berdasarkan tabel 5.5 diperoleh rata-rata kelompok KN adalah $11,4 \pm 1,41$ unit/mg, kelompok KP adalah $9,3 \pm 0,75$ unit/mg, kelompok P1 adalah $9,84 \pm 0,22$ unit/mg, kelompok P2 adalah $10,56 \pm 0,37$ unit/mg dan pada kelompok P3 adalah $9,85 \pm 0,79$ unit/mg. Secara statistik terdapat perbedaan rata-rata aktivitas katalase antar kelompok ($p < 0,05$). Untuk melihat perbedaan antara kelompok dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test Multiple Comparisons*, jenis *Bonferroni* hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji *Post Hoc Test* Terhadap Kadar Katalase Antar Kelompok Penelitian

Kelompok	KP	P1	P2	P3
KP	-	1,000	0,029*	1,000
P1	1,000	-	1,000	1,000
P2	0,029*	0,440	-	0,444
P3	1,000	1,000	0,444	-

(*terdapat perbedaan bermakna)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Test* pada tabel 5.6, ternyata kelompok yang berhubungan secara signifikan adalah pada kelompok KP dengan kelompok P2 ($p = 0,029$), sedangkan kelompok yang lain tidak memperlihatkan hubungan yang signifikan ($p > 0.05$).

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Keterbatasan Penelitian

Dalam melakukan penelitian ini, penulis memiliki beberapa keterbatasan yaitu :

- a) Adaptasi tikus yang dikirim dari Surabaya membutuhkan waktu beberapa hari agar kondisi tikus tidak dalam keadaan stress, sehingga pada saat tikus diberi perlakuan tubuhnya dalam keadaan stabil.
- b) Ruangan tempat pengandangan tikus juga diisi oleh beberapa penelitian lain, sehingga terlalu padatnya ruangan penelitian yang akan menyebabkan peningkatan suhu ruangan yang bisa menyebabkan tikus kurang nyaman.
- c) Keterbatasan jumlah tikus menyebabkan tidak adanya random terhadap tikus yang akan diambil sebagai sampel, sehingga bisa jadi menyebabkan data yang tidak terwakilkan.

6.2 Kadar MDA

Hiperglikemia pada DM atau DM yang tidak terkontrol akan meningkatkan produksi radikal bebas yang ditandai oleh peningkatan kadar *thiobarbituric reactive substance* (TBARs) dalam plasma. Hiperglikemia kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemia kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi mikrovaskuler pada penderita DM. *Malondialdehyde* merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, dan biasanya digunakan sebagai *biomarker* biologis untuk menilai stress oksidatif (Suryohudoyo, 2000).

merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, dan biasanya digunakan sebagai *biomarker* biologis untuk menilai stress oksidatif (Suryohudoyo, 2000).

Berdasarkan dari tabel 5.1, dapat dilihat rata-rata kadar MDA pada kelima kelompok penelitian adalah rata-rata kelompok kontrol negatif $8,49 \pm 2,38$ nmol/ml, pada kelompok kontrol positif $12,81 \pm 1,57$ nmol/ml. Terjadi peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif pada setiap sampel penelitian. Seperti terlihat pada tabel 5.1 rerata peningkatan kadar MDA dari 8,49 nmol/mg (KN) menjadi 12,81 nmol/mg (KP), dengan arti kata kadar MDA pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan sebanyak 1,5 kali lipat. Hal ini disebabkan karena pada kelompok kontrol negatif tikus dalam keadaan normal dan diberi makan sesuai dengan kebutuhan serta tikus tidak diberi perlakuan sedangkan pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan kadar MDA disebabkan oleh karena pemberian aloxan dengan dosis 150 mg/kg BB tikus menyebabkan rusaknya sel beta pankreas sehingga sekresi insulin menurun. Penurunan sekresi insulin akan menyebabkan kadar glukosa dalam darah sehingga terjadi keadaan hiperglikemia. Pada kondisi hiperglikemia akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif sehingga produksi ROS di dalam tubuh meningkat dan akan menyebabkan terbentuknya peroksida lipid sehingga terjadi peningkatan kadar MDA.

Di dalam tubuh, ROS secara konstan diproduksi dan dieliminasi, selama sel masih memiliki pertahanan endogen melawan zat oksidan tersebut. Diduga bahwa kadar ROS yang rendah berperan dalam fisiologi signaling antara sel secara normal. Sedangkan produksi ROS yang berlebihan atau terjadinya

kerusakan perlindungan terhadap ROS menimbulkan stress oksidasi, sehingga mengakibatkan terjadinya beberapa kelainan patologis (Rush et al, 2005)

Pada tabel 5.1 terlihat bahwa rerata kadar MDA pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak rosella dengan dosis bertingkat selama 21 hari, pada kelompok perlakuan 1 dengan dosis 65 mg/kg BB adalah 10,28 nmol/ml, pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 130 mg/kg BB adalah 7,75 nmol/ml dan pada kelompok perlakuan 3 dengan dosis 195 mg/kg BB adalah 8,04 nmol/ml. Rerata kadar MDA mengalami penurunan pada kelompok P1 dan P2 yaitu dari 10,28 nmol/ml menjadi 7,75 nmol/ml. Pada kelompok perlakuan 3 (P3) terjadi peningkatan kadar MDA dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2.

Terjadinya penurunan rerata kadar MDA pada kelompok P1 dan P2 disebabkan oleh pemberian ekstrak rosella sebagai anti oksidan yang dapat meredam efek radikal bebas pada tikus hiperglikemia akibat dari induksi aloxan. Pada kelompok P3 terjadi peningkatan rerata kadar MDA dibandingkan dengan kelompok P1 dan P2. Peningkatan kadar MDA pada dosis P3 ini kemungkinan disebabkan karena pemberian dosis P3 ini tidak mampu mencegah efek dari radikal bebas tikus hiperglikemia akibat dari induksi aloxan.

Pemberian ekstrak rosella dengan tiga variasi dosis perlakuan maka dosis P2 merupakan dosis yang optimal yang dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar MDA secara maksimal.

Berdasarkan uji statistik *ANOVA* (Tabel 5.2) didapat nilai $p = 0,014$ ($p < 0,05$) berarti pada α 5% ada perbedaan yang signifikan antara kadar MDA pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, perlakuan dosis 1,

perlakuan dosis 2 dan perlakuan dosis 3. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Trijono (2010) dengan variasi dosis seduhan rosella 250, 500 dan 750 mg/kg BB tikus selama 14 hari, didapatkan hasilnya terjadi penurunan kadar MDA tikus yang telah diberi ekstrak rosella selama 14 hari dan terjadi peningkatan kadar MDA lagi pada dosis ke 3, tetapi rerata kadar MDA antar kelompok tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$).

Analisis lebih lanjut dengan uji *Post Hoc Test* (tabel 5.3) membuktikan bahwa kelompok yang berbeda signifikan adalah kelompok P1 dengan kelompok P3. Kelompok perlakuan dengan dosis 3 terjadi peningkatan kadar MDA dari kelompok dosis 1 dan kelompok 2, berarti kadar MDA yang paling rendah yaitu pada dosis 2.

6.3 Aktivitas Katalase

Beberapa senyawa yang sering dijadikan petunjuk adanya kerusakan akibat radikal bebas ini adalah MDA, GSH dan enzim katalase. Enzim katalase memiliki peranan proses penguraian peroksidase menjadi oksigen. MDA merupakan salah satu senyawa yang dapat menggambarkan aktifitas oksidan (radikal bebas) dalam sel, sedangkan enzim katalase menggambarkan aktifitas antioksidan didalam sel. Aktifitas enzim katalase dihitung berdasarkan penguraian H_2O_2 pada panjang gelombang 210 nm. Satu unit aktifitas didefinisikan sebagai perbedaan serapan /menit /miligram protein jaringan.

Berdasarkan tabel 5.4, diketahui rata-rata kadar aktifitas katalase pada 5 kelompok penelitian yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan dosis 1, kelompok perlakuan dosis 2 dan kelompok

perlakuan dosis 3. Pada kelompok kontrol negatif didapatkan rata-rata aktifitas katalase adalah $11,41 \pm 1,41$ unit/mg, artinya aktifitas katalase pada kelompok ini bekerja dengan baik dalam pemecahan $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, karena kondisi tikus yang tidak diinduksi aloksan dan tikus dalam keadaan normal. Pada kelompok kontrol positif, rerata aktifitas katalase adalah 9,34 unit/mg. Aktifitas katalase pada kelompok kontrol positif ini lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena tikus diinjeksi aloksan akan merusak sel beta pankreas sehingga terjadinya stress oksidatif yang ditandai dengan peningkatan ROS. Pada kondisi hiperglikemia, kadar radikal bebas sebagai oksidan didalam tubuh meningkat, sehingga oksidan yang terbentuk menekan aktifitas enzim anti oksidan endogen yang salah satunya enzim katalase. Pada saat produksi radikal bebas maka aktifitas katalase akan mengalami penurunan karena H_2O_2 akan menjadi $\cdot\text{OH}$ (Radikal Hidroksil) yang sangat toksik.

Pada tabel 5.4, dapat diketahui rata-rata aktifitas katalase setelah diberi ekstrak roselia dengan dosis bertingkat pada tiga kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan dosis 1 kadar aktifitas katalase adalah $9,84 \pm 0,22$ unit/mg, pada kelompok perlakuan dosis 2 adalah $10,56 \pm 0,37$ unit/mg dan pada kelompok perlakuan dosis 3 adalah $9,85 \pm 0,79$ unit/mg. Ini menunjukkan dengan pemberian anti oksidan dapat meningkatkan aktifitas katalase karena H_2O_2 dapat dipecah menjadi H_2O dan O_2 dan tidak menjadi $\cdot\text{OH}$ sebagai toksik.

Berdasarkan uji statistik *ANOVA* pada tabel 5.5 diketahui nilai $p=0,036$ ($p<0,05$) artinya terdapat perbedaan signifikan antara masing-masing kelompok penelitian yaitu pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan dosis 1, perlakuan dosis 2 dan perlakuan dosis 3 pada nilai α 5%.

Analisis lebih lanjut dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Test*, seperti yang dapat dilihat pada tabel 5.6, bahwa membuktikan kelompok yang berbeda signifikan adalah antara kelompok KP dengan kelompok P2. Dan berdasarkan uji statistik tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok penelitian yang lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rosella dapat meningkatkan aktifitas katalase pada kondisi hiperglikemia dengan dosis optimal.

Dengan 3 tingkatan dosis ekstrak rosella yang diberikan didapatkan dosis optimal pada peningkatan aktifitas katalase setelah diberi ekstrak rosella adalah pada dosis ke 2, sama halnya dengan kadar MDA juga didapatkan dosis ke 2 sebagai dosis maksimal. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nur Hidayah (2009) pada dosis bertingkat pemberian ekstrak bunga rosella dapat meningkatkan aktivitas katalase, dengan peningkatan aktivitas katalase yang paling tinggi terjadi pada kelompok perlakuan pada dosis setara 1 kali dosis manusia.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian, maka dapat diambil beberapa kesimpulan :

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap penurunan kadar MDA pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan, yang terbukti pada kelompok P1 dengan kelompok P3 dengan nilai $p=0,012$.
2. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella terhadap peningkatan aktivitas katalase pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloxan, yang terbukti pada kelompok KP dengan kelompok P2 dengan nilai $p=0,029$.

7.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lanjut dengan variabel yang berbeda misalnya pada SOD atau GSH, sehingga ilmu yang dibahas dapat dikembangkan untuk menggali informasi ilmiah tentang peranan dari bunga rosella.
2. Penelitian ini agar dilanjutkan dengan uji klinik sehingga dapat diaplikasikan ke manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2005. Artikel : *Tanaman Obat Indonesia*. Diakses dari [http : // www.iptek.net.id/ind/pd_taubat/view.php](http://www.iptek.net.id/ind/pd_taubat/view.php)
- Anonim, 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Melitus*, Depkes, Dirjen, Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Jakarta
- Arellano, L.F.P.G, Carillo.E.Avilla and F.Ramos. 1997. *Shrimp Head Meal Utilization In Broiler Feeding poult*, Sci
- Amri, A, Hamza A,A.2005. *hipatoprotective Effect of hibiscus, Rosmaninus and Salvia on Azathioprine – Induced Toxicity in Rats*
- Ali, B.H, Naser, A.W, Gerald, B. 2005. *Phytochemical, Pharmacological and Toxicology Aspects of Hibiscus Sabdariffa L : A Review Phytotherapy Research*
- Arsyad Z, 1955. *Peranan Stess Oksidatif Pada Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK) Dan Proses Penuaan. Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Penuaan. Dalam Rangka Lunstrum IX FKUA 7 September 2000*
- Corwin, Elizabeth, J (2001) *Buku Saku Patofisiologi (hand book of pathophysiology)* Jakarta : EGC
- Cherubini,A. Roggiero,C. Polidon, M.C, Meroci,P. 2005. *Potensial Marker of Additional Antioxidant Osterrecheisches J for Sportmodizin*
- Christianto T, 2000. *Radikal Bebas Dan Diabetes Mellitus, Pertemuan Ilmiah Berkala – I Ilmu Penyakit Dalam*
- Darmono, 2007. *Pola Hidup Sehat Penderita Diabetes Mellitus : Naskah Lengkap Diabetes Mellitus Ditinjau Dari Berbagai Aspek Penyakit Dalam*. Editor : Darmono, Suhartono T, Pemanyun TGD, Padmomartono FS. Semarang : Badan Penerbit Iniversitas Diponegoro

- Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi* Edisi IV, Jakarta. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Gustaviani, R. 2006. *Diagnosis Dan Klarifikasi Diabetes Melitus*. Dalam : Sudoyo, AW, *et al*, Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Haryatmi, S. 2004. *Materi Pokok Metode Statistika Multivariate*. Karunika Universitas Terbuka, Jakarta
- Han, S., S.Co, S.C, , Choi, Y.W. Kim, J.H and S.H Baek. 2004. *Antioxidant Activity Of Crude Extract and pure Compounds of Acer Ginnalamax*, Bull. Korean Chem. Soc
- Halliwell, B. Gutteridge, J.M.C, 2007. *Free Radicals In Biology an Medicine*. Fourth Edition New york, Oxford University Press
- <http://cyberwap.net/blog/view.php?id>
- Joseph, P. David, 1997, *Molecular Toxicology*, Oxford University Press, New York
- Jettawattana s, 2005. *Malondialdehyd (MDA) a Lipid Oxidation Product*. Disertation, the University of Iowa. Iowa City. Diakses dari <Http://www.medicin.pdf>. Pada Tanggal 25 Januari 2010
- Kusmardiana, S, Melati, S, Nawawi A. 2007. *Detail Penelitian Obat Bahan Alam* Available From : <http://bahan-alam.pa.itb.ac.id> (15 Januari 2011)
- Kriscahyo D et al, 2003. *The Influence of Caloric Retriktion During Fasting of the Month of Ramadhan on Free Radicals Antioxidant Expressed in the from if Malondialdehyd and gluthation in Healthy young Males*. Acta Medika Indonesia
- Kusumawati D, 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gajah Mada University Press

- Latief. S.A, Suryadi K.A dan dahlan M.R, *Petunjuk Praktis Anestesiologi*, Edisi II, Bagian Anestesiologi dan Terapi Intensif FK – UI, Jakarta. 2001
- Lin,W.L, H Sieh, Y.J.Chow,F.P, Wang,C.J, Cheng, M.T, T Ceng, T.H. 2003
Hibiscus Protocatechuic Acid Inhibits Hipopolysaccharide – Induced Rat Hepatic Damage. Arch. Toxicol
- Liu, C.L, wang, J.M, Chu,L.Y, Chens M.T, T.H, 2002. *In vivo Protective Effect Of Protocauic Acidtech Acid On Tert – Butyl Hydroperoxicity*. Food chem. Toxicol
- Lazze, M.C, Pizzala,R, Savio,M, Stiralu,L.A, Prosperi, E, Bianchi,L.2003.
Anthocyanis Protect Againts DNA Damage Induced by Tert – Butyl – Hydroperoxide in Rat Smooth Muscle and Hepatoma Cells. Mutation Research
- Lorenzi M, 2007. *The Poliol Pathway As Mecanism For Diabetic Retinophaty : Attractive, Elusive, And Resillent*. Experimental Diabetes Research
- Lawrence JC, 1994. *Insulin and Oral Hypoglikemic Agents*, In Brody. TM Lanner,J.Minneman, KP and Neu,HC (ed), Human Pharmacology.London
- Mahdi, Chanif., Hidayati,Sri., Safitri Anna, 2009. *Immunomodulasi oleh Paparan Formalin dalam Makanan terhadap Permeabilitas Barrier Tractus Gastrointestinal dan Alternatif Perbaikannya melalui Diet Terapi Probiotik Strain Lokal*, Malang
- Maryani, H dan L. Kristiana, 2008. *Khasiat dan manfaat Bunga Rosella*. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Murray, R.K.Granner P.K.Mayes P.A., Redwell, V.W. 2000 *Biokimia Harper*. Edisi 25 Jakarta, EGC
- Mardiah, Hasibuan, S. Rahayu A, Ashari RW. 2009. *Budi Daya dan Pengolahan Rosella* Edisi ke I, Jakarta, Agromedia

- Mayes, PA, 2003. *Struktur Dan Fungsi Vitamin Larut Lipid*. Dalam Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta, EGC
- Maryani H, Kristiana.L, 2008. *Khasiat dan Manfaat rosella*. Jakarta.PT Agromedia Pustaka
- Nugroho BA dan Purwaningsih E, 2006. *Perbedaan Diet Ekstrak Rumput Laut (Euchema sp) dan Insulin dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Hiperglikemik*. Media Medika Indonesia
- Ngatijan, 2006. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Cetakan I. Yogyakarta, Bagian Farmakologi Dan Toksikologi Fakultas Kedokteran UGM
- Ojokoh, O.A. 2006. *Rosella (Hibiscus Sabdariffa.L) Calyx Diet and Histopathological Changes in Live Albino Rats*.J.Food Tea
- Okasha, M.A, Abubakar,M.S, bako.IG. 2008. *Study of the Effect of A Queous hibiscus Sabdariffa Linn Seed Extract on Serum Prolactin Level of Lactating female Albino Rats* European journal of Scientific Research
- Prakash, Anna (2001). *Antioxcidan Activity Medallion Laboratories Analitical Progress*
- Pham – Huy.L.A.P, He.H.C. 2008 *Free Radicals, Antioksidants In Deases and Health Biomed Sci*
- Pangkahila, W. 2007. *Memperlambat Penuaan Meningkatkan Kualitas Hidup. Anti Aging Medicine*. Cetakan ke I. Jakarta, Penerbit Buku Kompas
- Robertson, RP. J. Harmon, P.O, Tran, Y.Tanaka and H.Takashi. 2003. *Glokose Toxicity in Beta Cell : Tipe 2 Diabetes Good Radicals Gone Bad, and The Glutathione Conection*
- Racheal, G. 2010. *Normal Rat Blood Glukose Level* [online] dari [http : //www.ekow.com](http://www.ekow.com) (5 Mei 2011)

Rush, J.W.E., Denniss S.G., graham D.A., 2005. Vascular Nitric Oxide and Oxidative stress : *Determinant of Endothelia Adaptation to cardiovascular Deases and to Physical Activity*

Rowland NE and Bellush LL, 1989. *Diabetes Mellitus : Stress Neurochemistry and Behaviour*, Neuroscience and Biobehavioral Review

Sugiarto. 2001. *Teknik Sampling*. PT Gramedia Pustaka Utama : Jakarta

Seungbum, K.S. Jun – Seop, K.Hyun – Jung, K.C. Fisher L, Mi – Ji and K. Chan – WHA, 2007. *Streptozotocin – Induced Diabetes Can Be Reversed By Hepatic Oral Cell Activation Throught Hepatic Trans Differentiation and Pancreatic Islet Regeneration*

Suyono, S. 2006. *Diabetes Mellitus di Indonesia*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Setyohadi B et al, 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI

Schteigart DE, 1994. *Metabolisme Glukosa dan diabetes Mellitus*. Dalam : Price SA, Wilson LM. Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Volume 1 Alih Bahasa : Pendit BU, Hartanto H, Wulalansari P, Mahanani DA, Jakarta : EGC

Szkudelski T, 2001. *The Mechanisme Of Alloxan And Streptozotocin Action In B Cell Of The Rat Pancreas*, Physiology Research

Syahbuddin S, 2000. *Peran Radikal Bebas Dan Antioksidan Pada Proses Penuaan Pada Diabetes Mellitus*. Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Penuaan Dalam Rangka Lunstrum IX Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Suryohandono P, 2000. *Oksidan, Antioksidan Dan Radikal Bebas. Buku Naskah Lengkap Simposium Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Penuaan Dalam Rangka Lunstrum IX Fakultas Kedokteran Universitas Andalas*

Walde SS, et al, 2002. *Molecular Target Struktures in Alloxan-Induced Diabetes in Mice*, life Science



HASIL PEMERIKSAAN KADAR MALONDIAL DEHID DAN AKTIVITAS KATALASE PADA TIKUS PUTIH
PENELITI : YELTRA ARMI

NO	K Sampel	T.Protein		H2O2 tersisa	H2O2 yg dihancurkan	Katalase		MDA	Rata2
		gr/dl	mg/ml			Aktifitas	Rata2		
1	K-1	6,75	67,5	90	710	10,52	11,41	14,95	13,24
2	K-2	5,32	53,2	83,8	716,2	13,46		16,38	
3	K-3	6,16	61,6	81,8	718,2	11,66		10,82	
4	K-4	6,11	61,1	84,8	715,2	11,71		11,26	
5	K-5	7,38	73,8	83,6	716,4	9,71		12,77	
6	K+1	7,7	77	90,2	709,8	9,22	9,34	6,58	8,67
7	K+2	8,13	81,3	83,6	716,4	8,81		9,22	
8	K+3	7,36	73,6	96	704	9,57		8,47	
9	K+4	8,23	82,3	93,2	706,8	8,59		10,89	
10	K+5	6,74	67,4	91,2	708,8	10,52		8,18	
11	P1-1	7,32	73,2	92,2	707,8	9,67	9,85	5,56	7,10
12	P1-2	7,08	70,8	88	712	10,06		9,57	
13	P1-3	7,14	71,4	91,2	708,8	9,93		6,82	
14	P1-4	7,09	70,9	89,6	710,4	10,02		5,44	
15	P1-5	7,45	74,5	87,6	712,4	9,56		8,1	
16	P2.1	6,82	68,2	89,2	710,8	10,42	10,56	8,85	8,04
17	P2.2	6,75	67,5	88,6	711,4	10,54		7,53	
18	P2.3	6,58	65,8	82,8	717,2	10,90		9,78	
19	P2.4	7,11	71,1	87,2	712,8	10,03		7,64	
20	P2.5	6,52	65,2	87,6	712,4	10,93		6,41	
21	P3.1	7,91	79,1	90,2	709,8	8,97	9,85	10,16	10,28
22	P3.2	6,6	66	87,8	712,2	10,79		10,47	
23	P3.3	6,7	67	90,8	709,2	10,59		10,49	
24	P3.4	7,53	75,3	92,2	707,8	9,40		9,49	
25	P3.5	7,53	75,3	84,6	715,4	9,50		10,81	

KETERANGAN :

- KN : KONTROL NEGATIF
- KP : KONTROL POSITIF
- P1 : PERLAKUAN DOSIS 1
- P2 : PERLAKUAN DOSIS 2
- P3 : PERLAKUAN DOSIS 3

ONEWAY

```
katalase mda BY klpk
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC = BONFERRONI ALPHA(.05).
```

Oneway

Notes

Output Created	28-JAN-2013 11:58:15	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	20
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax	ONEWAY katalase mda BY klpk /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC = BONFERRONI ALPHA(.05).	
Resources	Elapsed Time	0:00:00.02
	Processor Time	0:00:00.05

[DataSet0]

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound	Upper Bound
katalase	KELOMP OK	5	9.3420	.75880	.33934	8.3998	10.2842	8.59	10.52
	POSITIF KELOMP OK P1	5	9.8480	.22129	.09896	9.5732	10.1228	9.56	10.06
	KELOMP OK P2	5	10.5640	.37193	.16633	10.1022	11.0258	10.03	10.93
	KELOMP OK P3	5	9.8500	.79539	.35571	8.8624	10.8376	8.97	10.79
	Total	20	9.9010	.70226	.15703	9.5723	10.2297	8.59	10.93
mda	KELOMP OK	5	8.6680	1.57155	.70282	6.7167	10.6193	6.58	10.89
	POSITIF KELOMP OK P1	5	7.0980	1.75403	.78443	4.9201	9.2759	5.44	9.57
	KELOMP OK P2	5	8.0420	1.30007	.58141	6.4278	9.6562	6.41	9.78
	KELOMP OK P3	5	10.2840	.49988	.22355	9.6633	10.9047	9.49	10.81
	Total	20	8.5230	1.73002	.38684	7.7133	9.3327	5.44	10.89

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
katalase	Between Groups	3.787	3	1.262	3.618	.036
	Within Groups	5.583	16	.349		
	Total	9.370	19			
mda	Between Groups	26.921	3	8.974	4.795	.014
	Within Groups	29.946	16	1.872		
	Total	56.866	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Bonferroni

Dependent Variable			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
(I) klpk	(J) klpk		Lower Bound	Upper Bound		Lower Bound	Upper Bound	Lower Bound
katalase	KELOMPOK POSITIF	KELOMPOK P1	-.50600	.37359	1.000	-1.6299	.6179	
		KELOMPOK P2	-1.22200(*)	.37359	.029	-2.3459	-.0981	
		KELOMPOK P3	-.50800	.37359	1.000	-1.6319	.6159	
	KELOMPOK P1	KELOMPOK POSITIF	.50600	.37359	1.000	-.6179	1.6299	
		KELOMPOK P2	-.71600	.37359	.440	-1.8399	.4079	
		KELOMPOK P3	-.00200	.37359	1.000	-1.1259	1.1219	
	KELOMPOK P2	KELOMPOK POSITIF	1.22200(*)	.37359	.029	.0981	2.3459	
		KELOMPOK P1	.71600	.37359	.440	-.4079	1.8399	
		KELOMPOK P3	.71400	.37359	.444	-.4099	1.8379	
	KELOMPOK P3	KELOMPOK POSITIF	.50800	.37359	1.000	-.6159	1.6319	
		KELOMPOK P1	.00200	.37359	1.000	-1.1219	1.1259	
		KELOMPOK P2	-.71400	.37359	.444	-1.8379	.4099	
mda	KELOMPOK POSITIF	KELOMPOK P1	1.57000	.86524	.530	-1.0329	4.1729	
		KELOMPOK P2	.62600	.86524	1.000	-1.9769	3.2289	
		KELOMPOK P3	-1.61600	.86524	.481	-4.2189	.9869	
	KELOMPOK P1	KELOMPOK POSITIF	-1.57000	.86524	.530	-4.1729	1.0329	
		KELOMPOK P2	-.94400	.86524	1.000	-3.5469	1.6589	
		KELOMPOK P3	-3.18600(*)	.86524	.012	-5.7889	-.5831	
	KELOMPOK P2	KELOMPOK POSITIF	-.62600	.86524	1.000	-3.2289	1.9769	
		KELOMPOK P1	.94400	.86524	1.000	-1.6589	3.5469	
		KELOMPOK P3	-2.24200	.86524	.118	-4.8449	.3609	
	KELOMPOK P3	KELOMPOK POSITIF	1.61600	.86524	.481	-.9869	4.2189	
		KELOMPOK P1	3.18600(*)	.86524	.012	.5831	5.7889	
		KELOMPOK P2	2.24200	.86524	.118	-.3609	4.8449	

* The mean difference is significant at the .05 level.



**KOMITE ETIKA PENELITIAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS**

Jl. Perintis Kemerdekaan Padang 25127

Telepon: 0751 31746 Fax : 0751 32838 No. Reg : 036/KNEP/2008

e-mail: fk2unand@pdg.vision.net.id

No: 159/KEP/FK/2012

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
ETHICAL CLEARANCE**

Tim Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang, dalam upaya melindungi hak azasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran/kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian dengan judul:

The Committee of the Research Ethics of the Faculty of Medicine, Andalas University, with regards of the protection of human rights and welfare in medical/health research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

Pengaruh pemberian ekstrak bunga rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) terhadap kadar malondialdehid dan aktivitas katalase pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar hiperglikemia yang diinduksi aloxan

Nama Peneliti Utama : Yeltra Armi, S.SiT

Name of the Investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Name of Institution

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut diatas.

and recommended the above research protocol.

Padang, 17 Oktober 2012

Plt. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

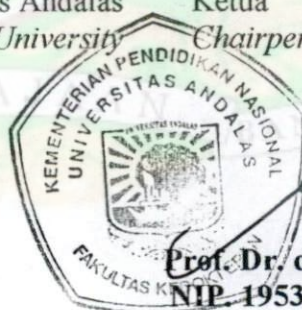
Plt. Dean of Faculty of Medicine Andalas University

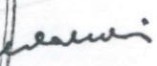
Ketua

Chairperson


Dr. Ir. Febrin Anas Ismail, MT

NIP. 19630221 198803.1.002




Prof. Dr. dr. Eryati Darwin, PA(K)

NIP. 1953 1109 1982 112 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS ANDALAS
PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan, PO.Box 49, Padang 27127
Telp. 0751 – 31746, Fax. 0751 – 32838

Padang, 9 Oktober 2012

Nomor : 124/H.16/Biomedik/PPs/2012
Hal : Penelitian
Lamp : 1 (satu)

Kepada Yth.

Kepala Laboratorium Farmakologi

Fakultas Farmasi Unand

Di

Padang

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan bahwa kami bermaksud menugaskan seorang mahasiswa (S2) Program Pascasarjana Universitas Andalas :

Nama	: Yeltra Armi
No. BP	: 10 21212 034
Program Studi	: Ilmu Biomedik

Untuk melakukan penelitian selama 1 bulan dari bulan Oktober s/d November 2012. Adapun penelitian ini dilakukan dalam rangka penulisan tesis yang menjadi syarat untuk menamatkan kuliahnya. Untuk itu mohon agar dapat diberikan izin dan bantuan kepada mahasiswa tersebut.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.



Prof. dr. Fadik Ghafil, PhD, SpGK
NIP. 194806121976021001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS ANDALAS
PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan, PO.Box 49, Padang 27127
Telp. 0751 – 31746, Fax. 0751 – 32838

Lampiran

JUDUL PENELITIAN DAN NAMA TIM PENELITIAN

Penasehat/Pelindung: Direktur Program Pascasarjana Universitas Andalas
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

Penanggung Jawab : Ketua Program Studi S2 Biomedik Program Pascasarjana
Unand

Pembimbing : 1. DR. Eti Yerizel, MS
2. Prof. DR. dr. Nasrul Zubir, SpPD-KGEH

Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella Terhadap Kadar
MDA dan Aktifitas Katalase Pada Tikus Hiperglikemia Yang di
Induksi Aloxan

Peneliti : Yeltra Armi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS ANDALAS
PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan, PO.Box 49, Padang 27127
Telp. 0751 – 31746, Fax. 0751 – 32838

Padang, 9 Oktober 2012

Nomor : 124/H.16/Biomedik/PPs/2012
Hal : Penelitian
Lamp : 1 (satu)

Kepada Yth.

Kepala Laboratorium Biokimia

Fakultas Kedokteran Unand

Di

Padang

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan bahwa kami bermaksud menugaskan seorang mahasiswa (S2) Program Pascasarjana Universitas Andalas :

Nama	: Yeltra Armi
No. BP	: 10 21212 034
Program Studi	: Ilmu Biomedik

Untuk melakukan penelitian selama 1 bulan dari bulan Oktober s/d November 2012. Adapun penelitian ini dilakukan dalam rangka penulisan tesis yang menjadi syarat untuk menamatkan kuliahnya. Untuk itu mohon agar dapat diberikan izin dan bantuan kepada mahasiswa tersebut.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.



Prof. dr. Fadil Qenzil, PhD, SpGK
No. 19480612 197602 1001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS ANDALAS
PROGRAM PASCASARJANA FAKULTAS KEDOKTERAN

Alamat : Jl. Perintis Kemerdekaan, PO.Box 49, Padang 27127
Telp. 0751 – 31746, Fax. 0751 – 32838

Lampiran

JUDUL PENELITIAN DAN NAMA TIM PENELITIAN

- Penasehat/Pelindung:** Direktur Program Pascasarjana Universitas Andalas
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
- Penanggung Jawab :** Ketua Program Studi S2 Biomedik Program Pascasarjana
Unand
- Pembimbing :** 1. DR. Eti Yerizel, MS
2. Prof. DR. dr. Nasrul Zubir, SpPD-KGEH
- Judul Penelitian :** Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella Terhadap Kadar
MDA dan Aktifitas Katalase Pada Tikus Hiperglikemia Yang di
Induksi Aloxan
- Peneliti :** Yeltra Armi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN NASIONAL
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS

KAMPUS LIMA MANIS, PADANG-25163, Telp. (0751) 71682, Fax. 777057

Website : <http://ffarmasi.unand.ac.id>

Email : dekan@ffarmasi.unand.ac.id

SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN

No.17 / H.16. Farmakol /PP/2012

Kepala Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Yeltra Armi

No. BP : 10 21212034

Program Studi : S-2 Biomedik

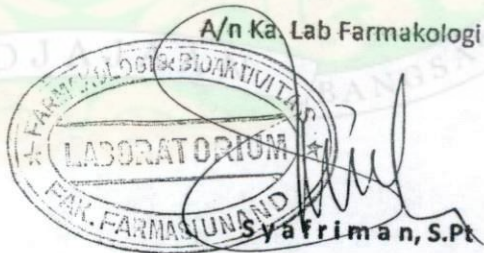
Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang dengan judul : *Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa) Terhadap kadar Marlondialdehid (MDA) dan Aktivitas Katalase Pada Tikus Putih (Rattus Novergius) Strain Wistar Hiperglikemia Yang Diinduksi Aloksan*, yang dimulai tgl 27 Agustus sampai 29 September 2012.

Segala kewajiban yang ditimbulkan dalam pelaksanaan penelitian tersebut telah diselesaikan dengan baik

Demikianlah surat keterangan ini dibuat, agar dapat dipergunakan dengan semestinya

Padang, 12 Oktober 2012

A/n Ka. Lab Farmakologi



NIP : 196410201989020010001

Tembusan :

1. Pembimbing I
2. Pembimbing II
3. Yang bersangkutan
4. Arsip,...

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUNGA ROSELLA

(HIBICUS SABDARIFFA)

TERHADAP KADAR MARLONDIALDEHID (MDA)

DAN

AKTIVITAS KATALASE PADA TIKUS PUTIH (RATTUS NOVERGICUS)
STRAIN WISTAR HIPERGLIKEMIA YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Dosis Ekstrak Rosella : 65 mg, 130 mg dan 195 mg/200 gram BB (Berat badan)

Dosis Aloksan : 30 mg/200 gram BB (Berat badan) atau 150 mg/kg BB

Kontrol Negatif (K -) : Tidak diperlakukan

Kontrol Positif (K+) : Hanya diinduksi dengan Aloksan

Perlakuan I (P-1) : Diinduksi dengan Aloksan dan Ekstrak Rosella 65 mg/200 gram BB

Perlakuan II (P-2) : Dinduksi dengan Aloksan dan Ekstrak Rosella 130 mg/200 gram BB

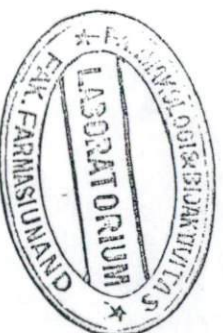
Perlakuan III (P-3) : Dinduksi dengan Aloksan dan Ekstrak Rosella 195 mg/200 gram BB

Tabel Hasil

KODE	NO	BERAT BADAN (GRAM)	KADAR GULA AWAL	VOLUME ALLOKSAN (ml)	KADAR GULA KE II	BERAT BADAN (GRAM)	VOLUME EKSTRAK (ml)	BERAT BADAN (GRAM)	KADAR GULA KE III
K -	1	195	93		96	201		212	94
	2	197	91		92	205		216	90
	3	214	80		76	221		238	78
	4	204	84		91	210		224	101
	5	207	99		89	212		227	91
Rata-2			89,4		88,8				90,8
K +	1	237	79	0,24	226	242		240	238
	2	224	89	0,22	210	230		239	226
	3	170	91	0,17	201	174		172	214
	4	156	94	0,16	198	163		160	210
	5	171	93	0,17	231	178		171	251
Rata-2			89,2		209,6				227,8



	1	208	94	0,21	189	214	1,39	200	199
	2	216	83	0,22	212	221	1,44	211	223
P-1	3	216	98	0,22	197	220	1,43	210	211
	4	227	86	0,23	199	231	1,50	227	215
	5	264	80	0,26	206	269	1,74	252	224
Rata-2			88,2		200,6				214,4
	1	284	106	0,28	204	286	1,86	293	205
	2	250	93	0,25	198	258	1,68	256	191
P-2	3	254	89	0,25	181	259	1,68	269	183
	4	280	94	0,28	208	283	1,84	301	206
	5	241	97	0,24	216	246	1,60	260	214
Rata-2			95,8		201,4				199,8
	1	233	93	0,23	207	212	1,38	243	187
	2	220	84	0,22	184	191	1,24	229	160
P-3	3	233	98	0,23	193	197	1,28	246	169
	4	222	89	0,22	183	186	1,21	223	181
	5	243	101	0,24	211	215	1,40	253	180
Rata-2			93		195,6				175,4



BAGIAN BIOKIMIA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ANDALAS
JL. PERINTIS KEMERDEKAAN PADANG. Telp. 21233

SURAT KETERANGAN
08/H16.2/BK-FK/2012

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan bahwa :


N a m a : YELTRA ARMI
No. BP : 10 21212 034
Pekerjaan : Mhs. S2 Biomedik FK Unand

Telah melakukan Penelitian/Pemeriksaan Kadar MDA, Total Protein dan Aktivitas Katalase dalam Darah Mencit pada Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unand pada 6 s/d 10 Oktober 2012.

Surat keterangan ini digunakan untuk melengkapi persyaratan dalam menyusun Tesis dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella Terhadap Kadar MDA dan Aktivitas Katalase Pada Tikus Hiperglikemia Yang di Induksi Aloxan" .

Demikianlah surat keterangan ini dibuat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya. Atas perhatian dan kerja samanya diucapkan terima kasih.

Padang, 15 Oktober 2012
Penanggung Jawab,



Dr. Eti Yerizel, MS
NIP. 195901011987022001

LAPORAN HASIL UJI

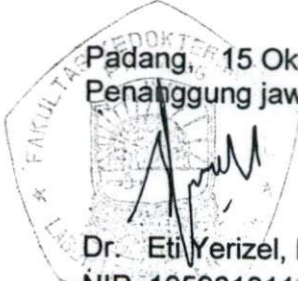
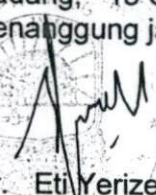
Nomor : 08 /LAB.BIOKIMIA-FKUA/ 2012

Nama Peneliti : YELTRA ARMI
Alamat : S2 Biomedik FK-Unand Padang
Jenis Sampel : Darah Mencit
Tanggal Penerimaan : 6 Oktober 2012
Tanggal Pengujian : 10 Oktober 2012

HASIL UJI LABORATORIUM

No.	Kode Sampel	Aktifitas Katalase	MDA Serum	No.	Kode Sampel	Aktifitas Katalase	MDA Serum
1	K-1	10.52	6.58	14	P1 -4	10.02	9.49
2	K-2	13.46	9.22	15	P1 -5	9.56	10.8
3	K-3	11.66	8.47	16	P2 -1	10.42	7.92
4	K-4	11.71	9.98	17	P2 -2	10.54	9.57
5	K-5	9.71	8.18	18	P2 -3	10.90	6.82
6	K+1	9.22	14.95	19	P2 -4	10.03	6.32
7	K+2	8.81	14.25	20	P2 -5	10.93	8.12
8	K+3	9.57	10.82	21	P3 -1	8.97	8.85
9	K+4	8.59	11.26	22	P3 -2	10.79	7.53
10	K+5	10.52	12.77	23	P3 -3	10.59	9.78
11	P1 -1	9.67	10.16	24	P3 -4	9.40	7.64
12	P1 -2	10.06	10.47	25	P3 -5	9.50	6.41
13	P1 -3	9.93	10.49				

Padang, 15 Oktober 2012
Penanggung jawab,



Dr. Eti Yerizel, MS
NIP. 195901011987022001

Tikus putih jantan yang dikirim dari Surabaya



Tikus yang dibagi lima kelompok yaitu :
K-, K+, P1, P2, P3



Timbangan berat badan Tikus



Menimbang berat badan Tikus



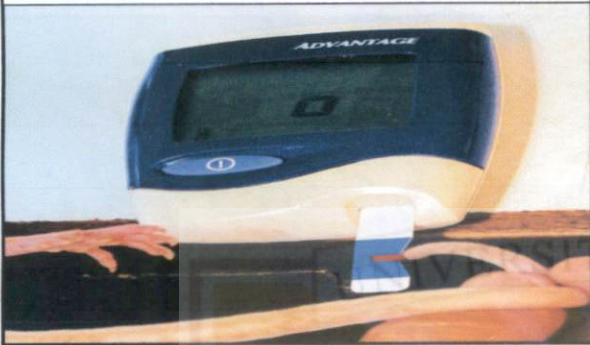
Aloxan



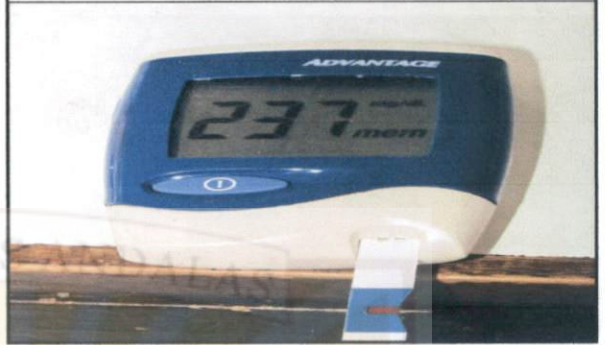
Alat periksa gula darah



Pemeriksaan gula darah



Hasil pemeriksaan



Ekstrak Rosella



Pemberian Ekstrak Rosella pada Tikus



Pembedahan Tikus



Organ Tikus



Proses pemisahan selesai



Pengambilan serum dari tabung reaksi

